ARCHIVES ROUMAINES
DE PATHOLOGIE EXPÉRIMENTALE
ET DE MICROBIOLOGIE

TOME 8 *N° 3* *SEPTEMBRE 1935*

MÉMOIRES ORIGINAUX

RECHERCHES SUR LES MODIFICATIONS DE L'ÉQUILIBRE PROTÉIQUE DU SÉRUM SANGUIN CHEZ LES CHEVAUX EN COURS D'IMMUNISATION (1)

par

C. IONESCO-MIHAIESTI, A. DAMBOVICEANU, P. CONDREA, M. MARBE et B. WISNER

L'étude de la nature des anticorps et des modifications physico-chimiques subies par le plasma sanguin, au moment de leur apparition dans l'organisme, a donné lieu déjà à de nombreux travaux.

L'augmentation des séro-globulines au détriment des séro-albumines au cours des différentes maladies contagieuses, de même qu'à la suite de l'inoculation expérimentale de substances à caractère antigénique, a été signalée depuis longtemps et confirmée par les travaux de ATKINSON [9], de LEDINGHAM [22], de HURWITZ et MEYER [17], de MARRACK et SMITH [23, 24], d'ACHARD et de ses collaborateurs [1, 2, 3, 4, 5, 6], etc. Une corrélation incontestable semble exister, d'après la majorité de ces auteurs, entre l'augmentation du poids des globulines du plasma

(1) Travail reçu en mars 1935.

et l'apparition des anticorps. Cette constatation trouve de plus un appui solide dans toute la série de recherches qui, en utilisant la méthode du fractionnement des protéines sériques (précipitation par les sels neutres ou par l'électrodialyse), ont montré qu'à peu près la totalité des anticorps se trouve dans le précipité de globulines (eu- ou pseudo-globulines).

Herzfeld [14], Herzfeld et Klinger [15], et plus tard Reymann [25, 26, 27], ont affirmé qu'il ne s'agirait pas d'une transformation des séro-albumines en séro-globulines, mais, plutôt d'une augmentation primaire du fibrinogène qui se transforme à son tour en eu-globulines, pseudo-globulines, séro-albumines et peptones. Ce fibrinogène résulterait d'une destruction cellulaire. En effet, Reymann constate, chez les chevaux immunisés avec de la toxine diphtérique, une augmentation du fibrinogène et des globulines qui se manifeste constamment en même temps que la diminution du nombre des globules rouges et conséquemment du taux de l'hémoglobine. La globine résultant de cette destruction serait transformée par le foie en fibrinogène, lancé ensuite dans la circulation. L'apparition de l'antitoxine dans le sérum sanguin se fait d'après Reymann au moment où ces modifications se manifestent.

Huntoon et ses collaborateurs [16, 17, 18], de même que Landsteiner et ses collaborateurs [20, 21], ayant réussi à obtenir des agglutinines (antibactériennes et antihématiques) presque complètement dépourvues du substratum protéique et inattaquables par les ferments protéolytiques, se croient autorisés à nier l'identité des anticorps avec les eu- ou les pseudo-globulines. A cette opinion se rallient également Berger et Petschacher [10, 11], Wolff [31], Schierge [29] et Went [30] qui croient plutôt que les anticorps forment avec les protéines des complexes instables ou ne sont qu'adsorbés à la surface des particules colloïdales de ces dernières.

Quelle que soit la nature des anticorps, les variations du taux des protéines coagulables par la chaleur (et particulièrement des eu-globulines et des pseudo-globulines) semblent, d'après l'avis de la majorité des auteurs, jouer un rôle capital dans les phénomènes d'immunité humorale. Certains auteurs, comme par exemple Ascione, Guglielmo [7, 8], vont jusqu'à affirmer que par l'inoculation simultanée de protéines partielles (séro-albumines, séro-globulines, lactalbumine) et des microbes, on arrive à stimuler l'apparition de tel ou tel anticorps suivant la fraction protéique utilisée.

Paul von Gara [13], dans le courant de la même année, en prenant comme point de départ les travaux antérieurs qui avaient montré qu'il existait une relation entre les différentes fractions protéiques et les anticorps (*agglutinines* liées aux eu-globulines ou aux eu- et pseudo-globulines; *hémolysines* liées aux globulines d'après certains auteurs, aux séro-albumines d'après les autres; *précipitines* liées aux eu-globulines, etc.), a immunisé des lapins avec différents antigènes après les avoir soumis préalablement à plusieurs injections d'eu- et de pseudo-globulines séparées (par électrodialyse) des autres constituants des sérums immuns. Il constate que la production d'anticorps est de beaucoup augmentée chez les animaux qui, avant l'immunisation active, avaient reçu des injections intraveineuses d'eu-globulines isolées des sérums immuns correspondants; les pseudo-globulines stimulent aussi la production d'anticorps, bien qu'à un degré moins prononcé.

⁂

Vu l'importance du problème et les avis partagés des auteurs qui se sont occupés des modifications des différentes fractions protéiques au cours de l'immunisation, il nous a semblé intéressant de reprendre cette étude en poursuivant les variations éventuelles de l'équilibre protéique du sérum sanguin chez les chevaux soumis à des injections répétées avec différents antigènes.

Nos expériences ont porté sur un groupe de 13 chevaux, inoculés avec des toxines ou des microbes en vue de la préparation de sérums thérapeutiques. Quatre chevaux ont été immunisés avec de la *toxine tétanique,* quatre avec de la *toxine diphtérique,* un avec des *bacilles typhiques,* deux avec des *vibrions cholériques* et deux avec des *bacilles coli.*

Sur chaque cheval ont été pratiquées des saignées de 50 centimètres cubes environ avant le commencement de l'immunisation et ensuite immédiatement avant chaque injection d'antigène et après l'injection, alors que l'animal présentait une forte réaction (fièvre, transpiration abondante, etc.). Le sérum obtenu de ces différents échantillons de sang a été examiné du point de vue de son pouvoir agglutinant ou antitoxique, de son indice de réfraction et de son contenu en protéines coagulables par la chaleur, respectivement eu-globulines, pseudo-globulines et séro-albumines. Nous résumons brièvement les méthodes dont nous nous sommes servis au cours de ces recherches.

TITRAGE DE L'ANTITOXINE TÉTANIQUE

Comme méthode de titration, nous avons utilisé une méthode établie d'après les principes d'Ehrlich, avec certaines modifications faites par l'un de nous (P. Condrea), que nous indiquerons plus loin, et qui la rendent presque identique à la méthode internationale utilisée pour la titration de l'antitoxine diphtérique.

Comme animal d'expériences, nous avons employé la souris blanche de 15 grammes. Tous les animaux provenaient d'un seul élevage.

Comme sérum antitoxique étalon, nous avons utilisé le sérum sec de l'Institut de thérapie expérimentale de Francfort, et dernièrement le sérum glycériné de l'Institut de l'Etat danois de Copenhague; tous les deux nous ont donné des résultats identiques.

La toxine utilisée à la titration est une toxine tétanique liquide, ancienne (5 ans) préparée par nous et complètement stabilisée.

Pour faire la titration d'une antitoxine donnée, on procède d'abord à l'établissement du L+ de notre toxine; on dissout le sérum-étalon dans l'eau physiologique, de manière que chaque centimètre cube renferme une unité antitoxique internationale (U. A.); on prend 5-6 verres coniques de capacité de 15 centimètres cubes ; on verse, avec une pipette de précision, 1 centimètre cube de la dilution sérique dans chaque verre ; on ajoute, avec une pipette semblable, des quantités variables de toxine stabilisée dans les limites supposées utiles, soit 1,3 cc., 1,4, 1,5, 1,6, 1,7, 1,8 cc.; on complète avec de l'eau physiologique le volume de chaque mélange à 4 centimètres cubes ; après un séjour de 30 minutes à la température de la chambre et à l'abri de la lumière, on inocule par voie sous-cutanée 0,4 cc. de chaque mélange, soit 1/10 de la quantité totale, à des souris de 15 grammes. Les animaux sont observés pendant 6 jours, et les symptômes observés sont régulièrement notés. On considère comme L+ la quantité minima de toxine, qui mélangée à une unité antitoxique, a été capable de tuer en trois jours la souris blanche de 15 grammes avec des phénomènes d'intoxication tétanique progressive et généralisée. Les nombreux contrôles de notre toxine nous ont montré qu'elle était parfaitement stabilisée; la valeur de son L+ n'a subi aucune variation pendant six mois de conservation à la glacière. Une fois le L+ établi, on procède à la titration du sérum inconnu de la manière suivante : on fait des dilutions progressives du sérum à titrer dans les limites présumées utiles de son pouvoir antitoxique, soit 1/300, 1/400, 1/500, etc.; on met dans chaque verre 1 centimètre cube de chaque dilution, on ajoute une quantité de toxine stabilisée égale au L+, on complète avec de l'eau physiologique le volume jusqu'à 4 centimètres cubes : après un séjour de 30 minutes à la température de la chambre, on inocule par voie sous-cutanée 0,4 cc. de chaque mélange, à des souris de 15 grammes; la souris qui succombe en trois jours, avec des phénomènes tétaniques généralisés, est celle qui a reçu le mélange contenant le L+ avec une unité antitoxique du sérum examiné.

Pour le titrage des fractions d'unité, on procède d'après la même méthode en établissant au préalable la quantité nécessaire de toxine

stabilisée, qui additionnée à 1/10, 1/20, etc., de l'unité antitoxique, provoque la mort de la souris dans les mêmes conditions et dans le même intervalle de temps.

D'après nos nombreux essais, cette méthode est aussi précise que la méthode internationale; elle a le grand avantage de demander un nombre beaucoup plus réduit d'animaux et permet, de cette manière, le titrage d'un plus grand nombre de sérums à la fois.

TITRAGE DE L'ANTITOXINE DIPHTÉRIQUE

La marche de l'immunisation antidiphtérique a été poursuivie par le titrage de l'antitoxine dans le sérum. Nous avons utilisé dans ce but la méthode de Ramon pratiquée avec une toxine diphtérique étalonnée au préalable (40 U. antigéniques par centimètre cube). Nous nous servons de petits tubes utilisés dans la réaction de Wassermann, contenant chacun 4 centimètres cubes de toxine additionnée de quantités décroissantes du sérum à examiner, calculées de telle manière que la différence d'un tube au suivant soit de 50 U. antitoxiques (Ehrlich). Après avoir bien mélangé le sérum avec la toxine, les tubes sont mis dans un bain-marie à 50° C. jusqu'à la floculation. Le premier tube floculant indique le titre du sérum examiné. Cette méthode, contrôlée de temps en temps par la méthode d'Ehrlich *in vivo*, nous a donné toujours satisfaction.

Cette même méthode, adaptée au titrage des petites quantités d'antitoxine: 30, 20, 10 par centimètre cube, ou moins, nous a donné toute satisfaction. Dans ces cas on ajoute, à une quantité constante de toxine standardisée, des quantités croissantes du sérum à examiner.

TITRAGE DES AGGLUTININES

On prépare préalablement, dans une solution de NaCl à 8 ‰, des dilutions de sérum allant de 1/10 à 1/100.000 ou 1/1.000.000, suivant le titre supposé du sérum. On verse 1 centimètre cube de chaque dilution dans une série de tubes à agglutination. On ajoute à chacun des tubes 1 à 2 gouttes d'une suspension microbienne obtenue à partir d'une culture sur gélose de 24 heures, émulsionnée dans 5 centimètres de solution physiologique. On laisse les mélanges une demi-heure à 37° et 2 heures à la température de la chambre ; on lit les résultats. On considère la limite de l'agglutination dans le dernier tube où elle est encore nettement visible à l'agglutinoscope.

DÉTERMINATION DE L'INDICE DE RÉFRACTION

Réfractomètre de Pulfrich (Abbé) d'après la technique classique. Dans nos tableaux et graphiques, l'indice de réfraction sera toujours exprimé par le nombre des divisions lues au réfractomètre à 17°5. Nos recherches nous ont montré que l'augmentation ou la diminution du nombre de divisions réfractométriques était toujours accompagnée par l'augmentation ou la diminution du taux des protéines totales, coagulables par la chaleur.

DOSAGE DE LA TOTALITÉ DES PROTÉINES COAGULABLES PAR LA CHALEUR

5 centimètres cubes de sérum sont additionnés de 5 centimètres cubes de solution de NaCl à 8 ‰, de 5 centimètres cubes de solution saturée de sulfate d'ammoniaque et de 15 centimètres cubes de solution de N/25 d'acide acétique (*p*H 4,5).

On chauffe au bain-marie bouillant jusqu'à coagulation complète (1 à 2 heures); on recueille le précipité sur un filtre taré; on lave à l'eau bouillante jusqu'à ce que la réaction au BaCl devienne négative ; on lave 3-4 fois avec de l'alcool à 96°, puis 3-4 fois à l'éther; on sèche (105°) jusqu'au poids constant. Le poids du précipité multiplié par 20 donne en grammes le taux des protéines totales pour 100 centimètres cubes de sérum.

DOSAGE DES DIFFÉRENTES FRACTIONS DE PROTÉINES

a) *Eu-globulines.* — 5 centimètres cubes de sérum sont additionnés de 5 centimètres cubes de solution de NaCl à 8 ‰ et de 5 centimètres cubes de solution saturée de sulfate d'ammonium. On agite et on laisse au repos pendant 12 heures. Le précipité d'eu-globulines est recueilli sur un filtre et lavé avec une solution saturée de sulfate d'ammonium additionnée de 2 fois son volume d'eau distillée, jusqu'à ce que les eaux de lavage ne deviennent plus opalescentes après chauffage. Le filtrat et les eaux de lavage, réunis, sont chauffés au bain-marie bouillant jusqu'à coagulation complète. Le précipité recueilli sur un filtre taré est soumis à un traitement identique à celui indiqué pour les protéines totales. Il exprime après pesée et multiplication par 20 le taux des protéines totales moins les eu-globulines. En retranchant le chiffre obtenu de la totalité des protéines, on obtient le poids des eu-globulines exprimé en grammes pour 100 centimètres cubes de sérum.

b) *Séro-albumines.* — 5 centimètres cubes de sérum sont additionnés de *5 centimètres cubes* de solution de NaCl à 8 ‰ et de *10 centimètres cubes* de solution saturée de sulfate d'ammonium. On agite, on laisse au repos pendant 12 heures. On retient le précipité de globulines sur un filtre et on lave avec une solution saturée de sulfate d'ammonium additionnée de son volume d'eau distillée jusqu'à ce que les eaux de lavage ne deviennent plus opalescentes après chauffage à 100°. Le filtrat et les eaux de lavage réunis sont chauffés au bain-marie bouillant jusqu'à coagulation complète. Le précipité recueilli sur un filtre taré est traité comme celui des protéines totales. Il représente, après pesée, multiplié par 20, le taux des séro-albumines exprimé en grammes pour 100 centimètres cubes de sérum.

c) *Séro-globulines.* — On obtient le taux des globulines, en grammes pour 100 centimètres cubes, en retranchant le taux des séro-albumines de celui de la totalité des protéines.

d) *Pseudo-globulines.* — Elles s'obtiennent en retranchant le taux des eu-globulines de la totalité des globulines.

*
**

Voici exposés par groupes, d'après la nature des antigènes employés, les résultats de nos recherches :

SÉRUMS ANTITOXIQUES

I. — *TOXINE TÉTANIQUE*

Quatre chevaux : n^{os} 371, 378, 380 et 91 ont été immunisés par la même méthode que nous résumons brièvement :

4 décembre 1929. — Début de l'immunisation. Injection sous la peau de *50 centimètres cubes d'anatoxine tétanique* (titre toxique initial : 1/65.000).

15, 22 et 29 janvier 1930. — Les animaux reçoivent respectivement *100, 200* et *200* centimètres cubes d'anatoxine (titre toxique initial : 1/200.000). La dernière injection est faite en même temps que l'inoculation de 1 gramme de tapioca.

5, 12, 19 et 26 février. — Injections successives de *10, 20, 40* et *80* centimètres cubes de *toxine tétanique* (titre toxique : 1/20.000). La dernière injection est accompagnée de l'inoculation de 1 gramme de tapioca.

5 mars. — Les animaux reçoivent *150* centimètres cubes de toxine (titre toxique : 1/20.000).

12, 19 et 29 mars. — On leur fait 3 injections successives de *200, 200* et *300* centimètres cubes de toxine (titre toxique : 1/40.000). Toutes les injections sont associées à l'inoculation simultanée de 1 gramme de tapioca.

2 et 9 avril. — Inoculation de *400* et de *600* centimètres cubes de toxine (titre toxique : 1/200.000).

16, 23 et 30 avril. — Trois autres injections successives chacune de *600* centimètres cubes de toxine (titre toxique : 1/100.000). Inoculation simultanée de 1 gramme de tapioca.

12 et 15 mai. — On pratique les *premières grandes saignées,* chacune étant de 8 litres de sang.

2 juillet. — Inoculation de *400* centimètres cubes de toxine (titre toxique : 1/120.000).

9 et 16 juillet. — Deux injections successives chacune de *600* centimètres cubes de toxine (titre toxique : 1/180.000 et 1/120.000). Inoculation simultanée de 1 gramme de tapioca.

3, 10 et 17 septembre. — On pratique les dernières injections immunisantes de *400, 600* et *600* centimètres cubes de toxine (titre toxique: 1/100.000) accompagnées de l'inoculation simultanée de 1 gramme de tapioca.

29 septembre et 2 octobre. — On pratique 2 saignées successives de 8 litres de sang chacune.

Nous résumons, dans les tableaux et les graphiques suivants,

les résultats de nos déterminations sur les échantillons de sérums recueillis avant et pendant toute la période d'immunisation.

GRAPHIQUE. — **Cheval 371.**

Date de la prise de sang	Div. réfract.	Prot. tot.	Séro-alb.	Glob.	Eu-glob.	Pseudo-glob.	S/G. *	Titre antitox. U. A.
	Grammes °/₀ cc. de sérum							
4 décembre,								
avant 1re *inj.*	56,1	7,75	2,16	5,59	2,89	2,70	0,49	—
5 décembre,								
après 1re *inj.*	51,5	6,90	2,06	4,84	2,88	1,97	0,43	—
15 janvier,								
avant 2e *inj.*	56,5	—	—	—	—	—	—	—
après » »	56,8	—	—	—	—	—	—	1/200
22 janvier,								
avant 3e *inj.*	54,8	—	—	—	—	—	—	1/40
après » »	54,7	—	—	—	—	—	—	—
29 janvier,								
avant 4e *inj.*	53	—	—	—	—	—	—	1/5
après » »	52,3	—	—	—	—	—	—	—
5 février,								
avant 5e *inj.*	54,2	—	—	—	—	—	—	20
après » »	52,5	—	—	—	—	—	—	—
12 février,								
avant 6e *inj.*	56	7,40	2,08	5,32	2,37	2,95	0,39	40
après » »	55,7	7,15	2,45	4,71	1,62	3,08	0,50	—
19 février,								
avant 7e *inj.*	53,8	—	—	—	—	—	—	30
après » »	54	—	—	—	—	—	—	—
26 février,								
avant 8e *inj.*	55,4	—	—	—	—	—	—	30
après » »	54,8	—	—	—	—	—	—	—
5 mars,								
avant 9e *inj.*	55,8	—	—	—	—	—	—	30
après » »	56,3	—	—	—	—	—	—	—
12 mars,								
avant 10e *inj.*	54,3	—	—	—	—	—	—	30
après » »	54	—	—	—	—	—	—	—
19 mars,								
avant 11e *inj.*	55,4	—	—	—	—	—	—	30
après » »	54,6	—	—	—	—	—	—	—
29 mars,								
avant 12e *inj.*	59	—	—	—	—	—	—	30
après » »	56,3	—	—	—	—	—	—	—
2 avril,								
avant 13e *inj.*	58	—	—	—	—	—	—	40
après » »	58	—	—	—	—	—	—	—
12 avril,								
avant 14e *inj.*	59,4	8,27	2,40	5,87	2,55	3,32	0,40	60
après » »	61,2	—	—	—	—	—	—	170

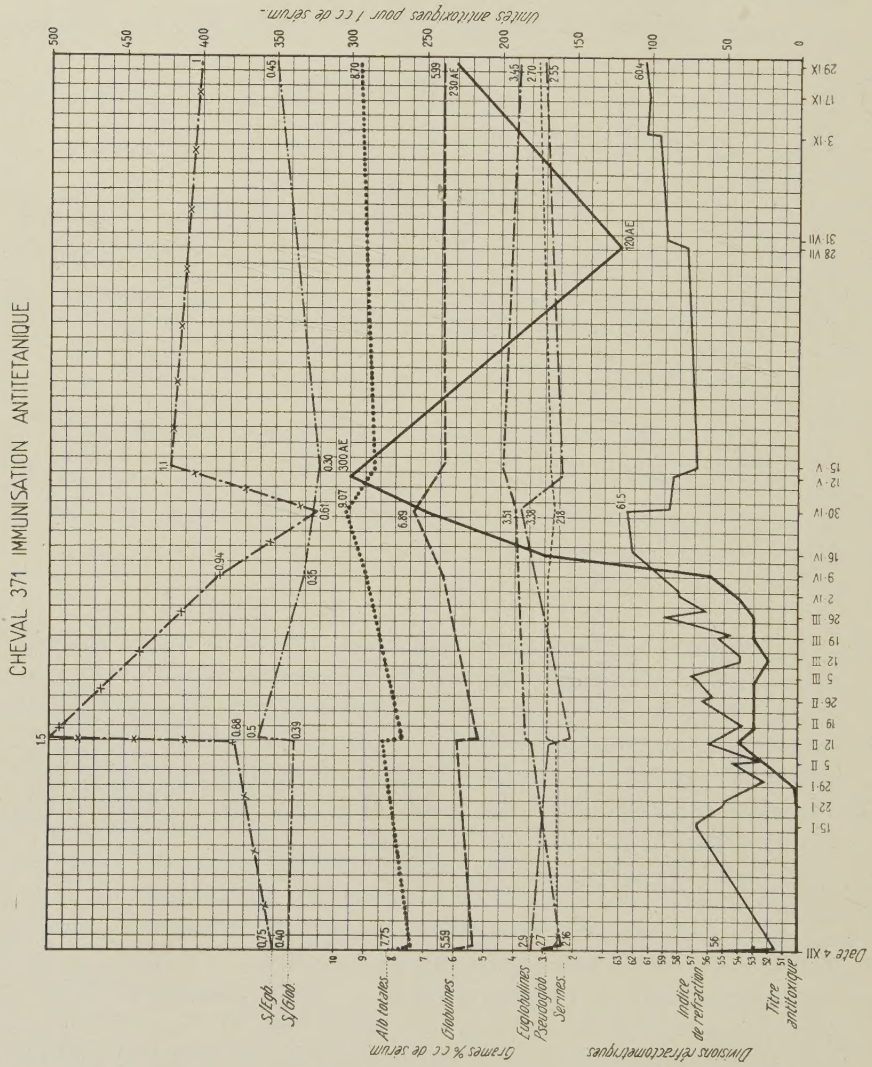
* Quotient sérines/globulines.

Date de la prise de sang	Div. réfract.	Prot. tot.	Séro-alb.	Glob.	Eu-glob.	Pseudo-glob.	S/G.*	Titre antitox. U. A.
	Grammes °/₀ cc. de sérum							
17 avril, 15e inj.	*60,3*	—	—	—	—	—	—	—
30 avril, 16e inj.	*61,5*	*9,07*	2,18	6,89	3,38	3,51	0,32	250
12 mai, 1re grande saignée.	58,3	—	—	—	—	—	—	300
15 mai, 2e grande saignée..	56,8	8,15	2,22	5,89	1,96	3,93	0,30	300
Après 3 injections réimmunisantes pratiquées les 2, 9 et 16 juillet :								
28 juillet, 3e grande saignée..	57,6	—	—	—	—	—	—	120
31 juillet,	59	—	—	—	—	—	—	—
Nouvelle réimmunisation pratiquée les 3, 10 et 17 septembre :								
29 sept., 2 octobre, 4e et 5e gr. saignées.	60,4	8,53	2,72	5,99	2,55	3,45	0,45	230

* Quotient sérines/globulines.

En résumé, on constate d'abord une baisse de taux des protéines totales immédiatement après la première injection de l'antigène. Cette baisse porte surtout sur les pseudo-globulines. Une augmentation progressive du taux des protéines totales succède à cet abaissement; cette augmentation alterne pourtant pendant la première période d'immunisation avec des diminutions transitoires consécutives aux injections de l'antigène. L'augmentation dans son ensemble est due surtout à l'élévation du taux des *eu-globulines*. La courbe de l'antitoxine suit d'assez près les variations du taux des protéines totales du sérum. Lorsque les eu-globulines arrivent à une valeur maxima (3,38 %) — 4 mois environ après le début de l'immunisation — l'antitoxine du sérum a atteint également son titre le plus élevé : 300 U. A. par cc. A ce moment, on pratique deux grandes saignées, on suspend l'immunisation et on laisse le cheval au repos pendant un mois et demi. Quand on reprend l'immunisation, on constate, après les injections de rappel, une diminution marquée des eu-globulines associée à l'abaissement du titre antitoxique (120 U. A. par centimètre cube).

Dans un stade ultérieur, on observe une légère augmentation du taux des pseudo-globulines, et de celui des séro-albumines aux-



quelles correspond une nouvelle augmentation du titre antitoxique qui est à ce moment de 230 U. A. par centimètre cube.

Au moment de l'augmentation maxima du pouvoir antitoxique du sérum (300 U. A.) correspondent les valeurs les plus petites pour le rapport séro-albumines/séro-globulines (0,30).

GRAPHIQUE. — **Cheval 378.**

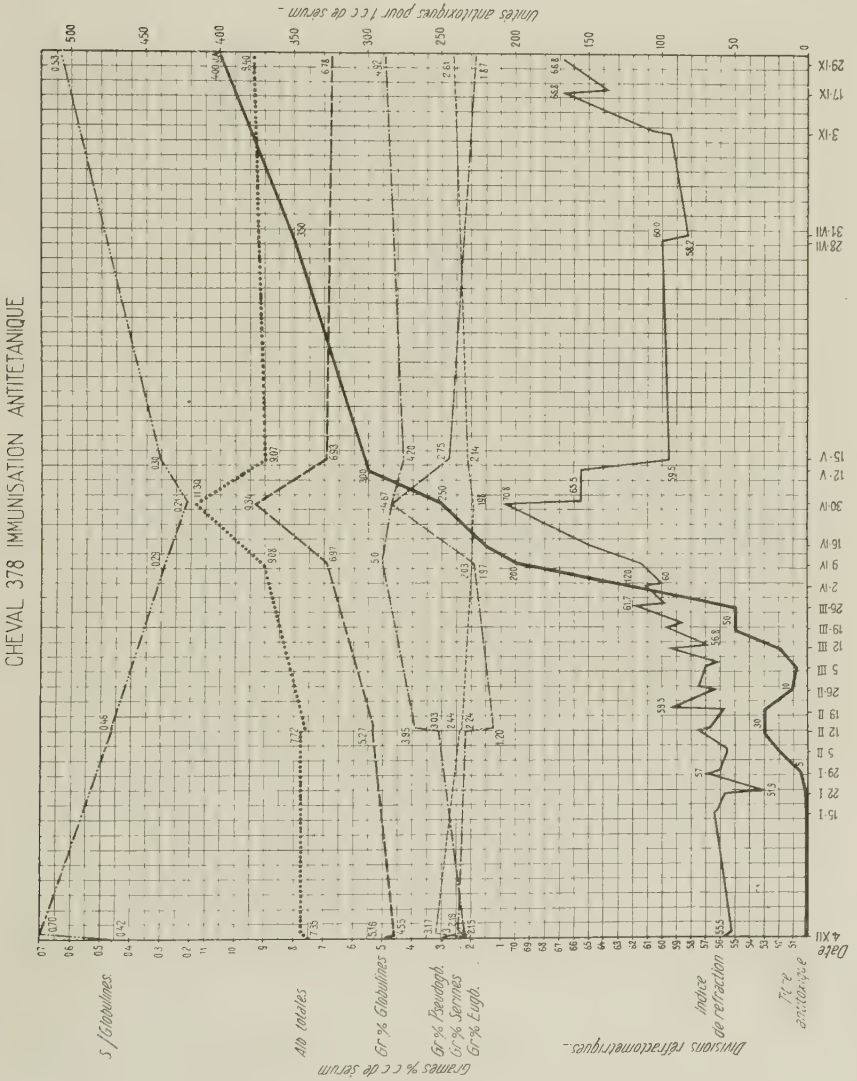
Date de la prise de sang	Div. réfract.	Prot. tot.	Séro-alb.	Glob.	Eu-glob.	Pseudo-glob.	S/G.	Titre antitox. U. A.
	Grammes °/₀ cc. de sérum							
4 décembre, avant *1re inj.*	55,5	7,36	2,19	5,16	2,15	3	0,42	—
5 décembre, après *1re inj.*	55,1	7,69	3,17	4,52	2,44	2,08	0,70	—
15 janvier, avant *2e inj.*	56,4	—	—	—	—	—	—	1 200
après » »	56,2	—	—	—	—	—	—	—
22 janvier, avant *3e inj.*	55,6	—	—	—	—	—	—	1/15
après » »	52,9	—	—	—	—	—	—	
29 janvier, avant *4e inj.*	57	—	—	—	—	—	—	5
après » »	56,2	—	—	—	—	—	—	—
5 février, avant *5e inj.*	55,6	—	—	—	—	—	—	20
après » »	55,6	—	—	—	—	—	—	—
12 février, avant *6e inj.*	57,6	7,72	2,44	5,27	2,25	3,03	0,46	30
après » »	56,8	7,62	2,42	5,19	1,21	3,96	0,46	—
19 février, avant *7e inj.*	55,8	—	—	—	—	—	—	30
après » »	59,5	—	—	—	—	—	—	—
26 février, avant *8e inj.*	56,4	—	—	—	—	—	—	10
après » »	57,8	—	—	—	—	—	—	—
5 mars, avant *9e inj.*	57,8	—	—	—	—	—	—	8
après » »	56,2	—	—	—	—	—	—	—
12 mars, avant *10e inj.*	59,7	—	—	—	—	—	—	20
après » »	56,8	—	—	—	—	—	—	—
19 mars, avant *11e inj.*	59,8	—	—	—	—	—	—	50
après » »	58,7	—	—	—	—	—	—	—
29 mars, avant *12e inj.*	*61*	—	—	—	—	—	—	50
après » »	54,8	—	—	—	—	—	—	—
2 avril, avant *13e inj.*	*61,3*	—	—	—	—	—	—	120
après » »	*60*	—	—	—	—	—		—
12 avril, *14e inj.*	*61,6*	9	2,03	6,97	1,97	5	0,29	200
16 avril, avant *15e inj.*	*65,1*	—	—	—	—	—	—	170
après » »	*65*	—	—	—	—	—	—	—

Date de la prise de sang	Div. réfract.	Prot. tot.	Séro-alb.	Glob.	Eu-glob.	Pseudo-glob.	S/G.	Titre antitox. U. A.
	Grammes °/₀ cc. de sérum							
30 avril, 16e inj.	*70,8*	11,33	1,98	9,34	*4,66*	4,68	0,21	250
12 mai, 1re saignée	65.5	—	—	—	—	—	—	300
15 mai, 2e saignée	59,6	9.07	2,14	6,93	2,75	4,18	0,30	300
Après la réimmunisation des 2, 9 et 16 juillet :								
28 juillet	60	—	—	—	—	—	—	350
31 juillet	58,3	—	—	—	—	—	—	—
Après la réimmunisation des 3, 10 et 17 septembre :								
29 sept., 2 octobre, 4e et 5e gr. saignées.	*64,4*	*9,26*	2,62	6,78	1,87	*4,92*	0,41	400

Chez ce cheval, dès le commencement de l'immunisation, on observe une augmentation progressive du taux des protéines totales (malgré les baisses passagères qui suivent immédiatement chaque inoculation d'antigène) qui atteint un maximum (11 gr. 3 %) *4 mois* environ après le début de l'immunisation. Cette augmentation est due aux globulines (9,34 gr. %) et surtout aux *eu-globulines* (4,67 gr. %). Le taux des séro-albumines présente par contre à ce moment une diminution nette par rapport à la normale (1 gr. 98 % comparativement à 2,19 %).

La courbe de l'antitoxine, après une période d'oscillations qui s'étend pendant les deux premiers mois, commence à monter régulièrement et arrive, 4 mois environ après le début de l'immunisation, à 300 U. A. par centimètre cube de sérum. Le cheval subit à ce moment les deux grandes saignées, qui sont suivies par une baisse du taux des protéines totales due surtout à la diminution des eu-globulines. Le taux des pseudo-globulines subit aussi une diminution passagère, mais sa valeur reste nettement supérieure (4 gr. 20 %) à celle du début de l'immunisation (3 gr. %).

A la reprise de l'immunisation et après les injections de rappel, on constate que, contrairement à la courbe des protéines, celle du titre antitoxique continue à s'élever pour arriver à la fin de nos recherches à une valeur maxima (400 U. A.). Cette dissociation pourrait être expliquée par le fait que le taux des pseudo-globulines reste constamment élevé à partir du cinquième mois d'immunisation.


CHEVAL 378 IMMUNISATION ANTITETANIQUE
Unités antitoxiques pour 1 c.c. de sérum
Grammes % c.c. de sérum
Divisions réfractométriques
Date
S/Globulines
A/G totales
Gr % Globulines
Gr % Pseudoglob.
Gr % Sérines
Gr % Euglob.
Indice de réfraction
Titre antitétanique

GRAPHIQUE. — **Cheval 380.**

Date de la prise de sang	Div. réfract.	Prot. tot.	Séro-alb.	Glob.	Eu-glob.	Pseudo-glob.	S/G.	Titre antitox. U. A.
	Grammes °/₀ cc. de sérum							
4 décembre, avant *1re inj.*	55,2	7	3,04	3,96	2,18	1,77	0,76	—
5 décembre, après *1re inj.*	52	6,82	2,69	4.13	2,22	1,91	0,65	—
15 janvier, avant *2e inj.*	52.6	—	—	—	—	—	—	1/200
après » »	53,5	—	—	—	—	—	—	—
22 janvier, avant *3e inj.*	52,6	—	—	—	—	—	—	1/2
après » »	50,6	—	—	—	—	—	—	—
29 janvier, avant *4e inj.*	52,5	—	—	—	—	—	—	8
après » »	50,7	—	—	—	—	—	—	—
5 février, avant *5e inj.*	52,7	—	—	—	—	—	—	130
après » »	53	—	—	—	—	—	—	—
12 février, avant *6e inj.*	54 4	7,19	2,54	4,65	1.77	2.88	0,54	180
après » »	52,7	7,92	3	4,92	2,10	2,82	0,61	—
19 février, avant *7e inj.*	53	—	—	—	—	—	—	180
après » »	54,3	—	—	—	—	—	—	—
26 février, avant *8e inj.*	53.4	—	—	—	—	—	—	140
après » »	54,7	—	—	—	—	—	—	—
5 mars, avant *9e inj.*	51.7	—	—	—	—	—	—	140
après » »	53,5	—	—	—	—	—	—	—
12 mars, avant *10e inj.*	56	—	—	—	—	—	—	120
après » »	53	—	—	—	—	—	—	—
19 mars, avant *11e inj.*	54,4	—	—	—	—	—	—	80
après » »	54,2	—	—	—	—	—	—	—
29 mars, avant *12e inj.*	56,5	—	—	—	—	—	—	80
après » »	53,2	—	—	—	—	—	—	—
2 avril, avant *13e inj.*	55,8	—	—	—	—	—	—	70
après » »	55	—	—	—	—	—	—	—
12 avril, 14e inj.	55,6	7,08	2.80	4,28	*0,98*	3,29	0,65	80
16 avril, avant *15e inj.*	57.6	—	—	—	—	—	—	120
après » »	56,5	—	—	—	—	—	—	—

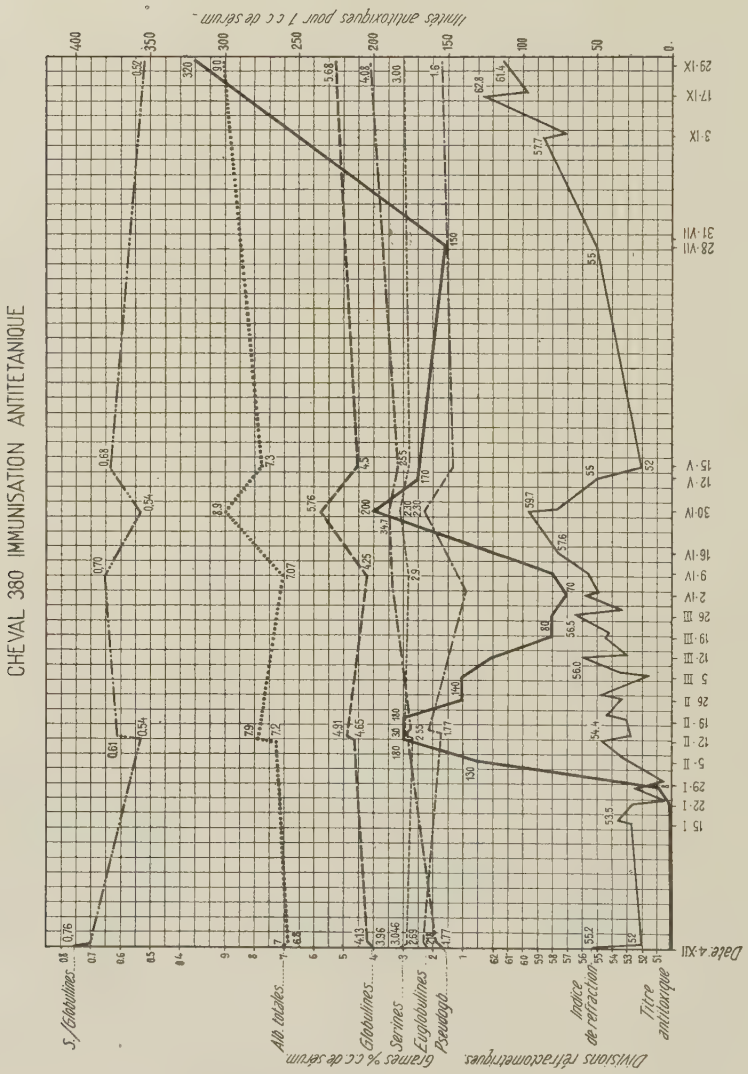
Date de la prise de sang	Div. réfract.	Prot. tot.	Séro-alb.	Glob.	Eu-glob.	Pseudo-glob.	S/G.	Titre antitox. U. A.
	Grammes °/₀ cc. de sérum							
30 avril, 16e inj.	59 7	8,89	3,12	5.76	2,30	*3,47*	0,54	200
12 mai, 1re grande saignée.	55	—	—	—	—	—	—	170
15 mai, 2e grande saignée..	52	7,30	2.82	4,48	1,30	3,18	0.63	170
Après la réimmunisation des 2, 9 et 16 juillet :								
28 juillet	55	—	—	—	—	—	—	150
31 juillet	55,4	—	—	—	—	—	—	—
Après la réimmunisation des 3, 10 et 17 septembre :								
29 sept., 2 octobre, 4e et 5e gr. saignées.	*59,6*	8.58	3	*5,68*	1,60	*3,08*	0,52	320

Le cheval 380, déjà avant le début de l'immunisation, avait un sérum relativement riche en séro-albumines (3 gr. 05 %) et pauvre en globulines (3 gr. 96 %) ; le rapport séro-albumines/globulines est beaucoup plus élevé que pour les autres (*0,76* au lieu de 0,40, 0,42 et 0,56).

Le titre antitoxique du sérum monte lentement pendant les deux premiers mois de traitement. Le taux des protéines totales, tel qu'il nous est indiqué par l'indice de réfraction, se maintient autour des valeurs initiales et même plus bas. Cependant, vers le commencement du mois de février, on constate une brusque élévation du titre antitoxique (130 U. A.) du sérum. A cette élévation ne correspondait apparemment qu'une faible augmentation des protéines totales. Cette augmentation est due aux globulines qui, de 3 gr. 96 (au début de l'immunisation), sont montées à 4 gr. 92. Dans la suite on observe, malgré les inoculations, une baisse assez rapide du titre antitoxique, ainsi que des eu-globulines dont le taux atteint (12 avril) une valeur minima (0,98).

Quatre mois et demi après le début de l'immunisation, nous constatons qu'après une augmentation progressive, le taux des protéines totales s'est élevé jusqu'à 8,9 gr. %. Le taux des globulines présente un maximum (5,76 %), l'élévation étant due surtout aux *pseudo-globulines* (3.47 gr.). La courbe du titre antitoxique suit en général celle du taux des pseudo-globulines.

Nos observations prolongées également pendant la période de réimmunisation nous donnent les résultats suivants : 10 mois après



le début de cette expérience, cet animal fournit un sérum dont le titre antitoxique a atteint la valeur maxima (320 U. A.), le taux des protéines totales s'étant élevé à 8,58 gr. %. Au même moment, le taux des pseudo-globulines est resté élevé (3 gr. 08 %), tandis que les eu-globulines sont revenues à la normale. Chez cet animal, les séro-albumines restent élevées (3 gr. %) du début jusqu'à la période terminale de l'immunisation.

GRAPHIQUE. — **Cheval 91.**

Date de la prise de sang	Div. réfract.	Prot. tot.	Séro-alb.	Glob.	Eu-glob.	Pseudo-glob.	S/G.	Titre antitox. U. A.
	Grammes °/₀ cc. de sérum							
4 décembre, avant *1re inj.*	59,8	8,65	3,14	5,51	3,26	2,25	0,56	—
5 décembre, après *1re inj.*	58,8	8,53	3,07	5,45	3,05	2,40	0,55	—
15 janvier, avant *2e inj.*	71,5	—	—	—	—	—	—	1/50
après » »	71,6	—	—	—	—	—	—	—
22 janvier, avant *3e inj.*	67,4	—	—	—	—	—	—	1/20
après » »	65,6	—	—	—	—	—	—	—
29 janvier, avant *4e inj.*	68,5	—	—	—	—	—	—	4
après » »	64,8	—	—	—	—	—	—	—
5 février, avant *5e inj.*	68	—	—	—	—	—	—	80
après » »	64,8	—	—	—	—	—	—	—
12 février, avant *6e inj.*	65,2	9,37	2.78	6.69	3,54	3.05	0.42	120
après » »	65,2	9,48	2,65	5.83	2,80	4,02	0.40	—
19 février, avant *7e inj.*	64	—	—	—	—	—	—	70
après » »	65,4	—	—	—	—	—	—	—
26 février, avant *8e inj.*	61.2	—	—	—	—	—	—	70
après » »	60,1	—	—	—	—	—	—	—
5 mars, avant *9e inj.*	62,1	—	—	—	—	—	—	80
après » »	64,2	—	—	—	—	—	—	—
12 mars, avant *10e inj.*	61,6	—	—	—	—	—	—	80
après » »	61,6	—	—	—	—	—	—	—
19 mars, avant *11e inj.*	63,2	—	—	—	—	—	—	120
après » »	62,3	—	—	—	—	—	—	—
29 mars, avant *12e inj.*	65,1	—	—	—	—	—	—	200
après » »	63,6	—	—	—	—	—	—	—
2 avril, avant *13e inj.*	65,4	—	—	—	—	—	—	230
après » »	63,4	—	—	—	—	—	—	—
12 avril, *14e inj.*	67,5	10,11	2,66	7,44	2,48	4,96	0,35	300
16 avril, avant *15e inj.*	69	—	—	—	—	—	—	350
après » »	69,9	—	—	—	—	—	—	—

Date de la prise de sang	Div. réfract.	Prot. tot.	Séro-alb.	Glob.	Eu-glob.	Pseudo-glob.	S/G.	Titre antitox. U. A.
	Grammes °/₀ cc. de sérum							
30 avril, 16e inj.	*70,5*	*11*	*1,95*	*9,05*	*3.97*	*5,09*	*0,21*	*450*
12 mai, 1re grande saignée.	66,7	—	—	—	—	—	—	—
15 mai, 2e grande saignée..	59	8,73	2,28	6,46	1,68	4,78	0,35	400
Après la réimmunisation des 2, 9 et 16 juillet :								
28 juillet	67.3	—	—	—	—	—	—	330
31 juillet	62.6	—	—	—	—	—	—	—
Après la réimmunisation des 3, 10 et 17 septembre :								
29 sept., 2 octobre, 4e et 5e gr. saignées.	*67*	*9,80*	*2,86*	*6,94*	*2,07*	*4,87*	*0.41*	*650*

Le sérum du cheval 91 était caractérisé déjà avant le début de l'immunisation par une richesse exceptionnelle en protéines totales, due en partie aux séro-albumines, mais surtout aux globulines.

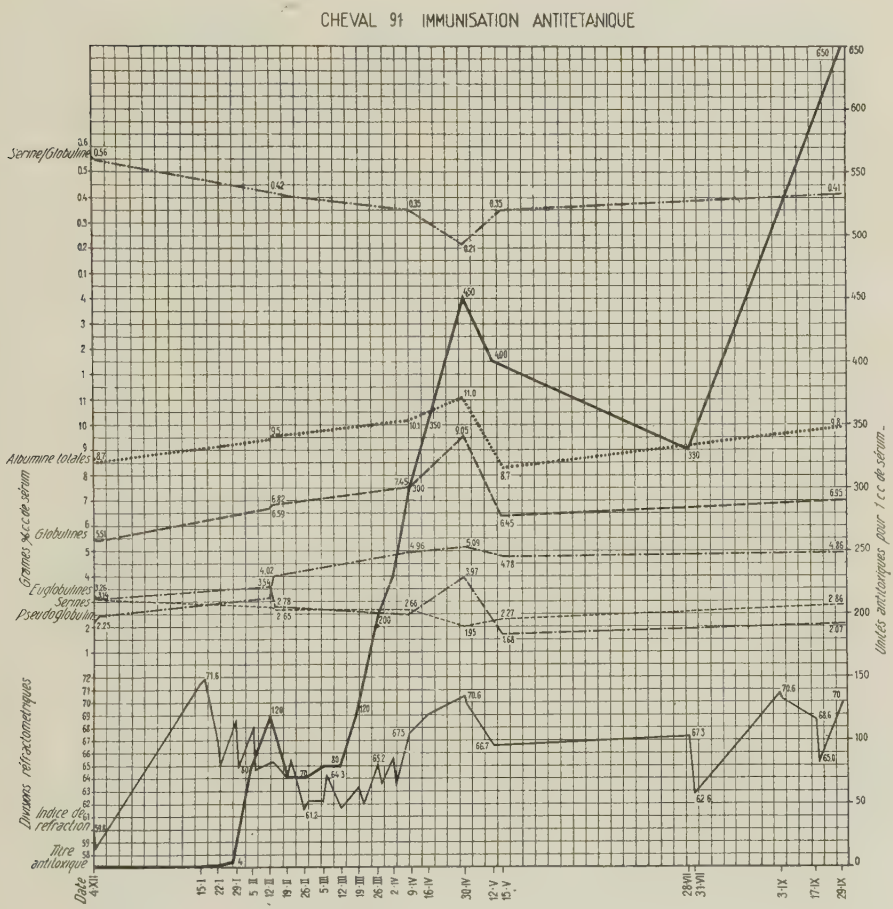
Un mois après la première inoculation, on constate une forte augmentation du taux des protéines totales, à laquelle ne correspond pas une élévation notable du titre antitoxique (1/50 d'une unité antitoxique par centimètre cube).

Pendant les deux mois suivants on observe, malgré certaines fluctuations, une augmentation progressive du taux des protéines, respectivement des eu- et pseudo-globulines. Quatre mois après le début de l'immunisation, ce cheval a fourni un sérum qui contenait 11 grammes % de protéines totales, 5,09 gr. % de pseudo-globulines et 3,97 gr. % d'eu-globulines. Le taux des séro-albumines avait baissé par contre à 1,95 gr. %. Le titre antitoxique marque à ce moment, après une ascension continuelle, 450 U. A.

Vient ensuite, comme chez les autres chevaux étudiés, une légère baisse des protéines due à la diminution du taux des eu-globulines; cette diminution est accompagnée d'une baisse du titre antitoxique (400 U. A.).

Après 45 jours de repos, on pratique trois nouvelles injections de toxine. La saignée du 28 juillet (12 jours après la dernière injection de toxine) nous a fourni un sérum dont le titre antitoxique était relativement bas (330 U. A.).

Le cheval est de nouveau laissé au repos pendant une période de 30 jours. On lui fait trois nouvelles injections de toxine espa-



cées de 7 jours chacune. Douze jours après la dernière, on constate une augmentation notable du titre antitoxique (650 U. A.), de même qu'une hausse des protéines totales en faveur des pseudo-globulines (4,36 gr. %), le taux des eu-globulines (2,06 gr. %) et celui des séro-albumines (2,86 gr. %) étant plus bas qu'au début de l'immunisation.

Résumé. — Chez le cheval en cours d'immunisation antitétanique, on constate l'*apparition d'un déséquilibre protéique du sérum,* qui se traduit généralement par une *élévation du taux des globulines,* tandis que la quantité des séro-albumines baisse ou ne présente pas de variations notables.

Pendant la première période de préparation du cheval, l'apparition de l'antitoxine dans la circulation en quantité notable est associée à l'augmentation des eu-globulines. Chez tous les animaux immunisés, quelles que fussent les premières variations, on constate, vers le quatrième mois de l'immunisation, le taux maximum des globulines (respectivement des eu-globulines) associé à un minimum de séro-albumines et à un titre antitoxique élevé.

Après les deux premières grandes saignées, on constate une diminution du taux des globulines due à la baisse des eu-globulines. Cette baisse des eu-globulines est accompagnée d'une diminution du titre antitoxique.

A la suite des injections de rappel, nous avons constaté chez tous nos chevaux une nouvelle augmentation des globulines due cette fois aux *pseudo-globulines*. Le titre antitoxique s'élève en même temps qu'augmente le taux des pseudo-globulines. A ce moment, la richesse en antitoxine du sérum sanguin chez les quatre chevaux immunisés avait atteint des valeurs maxima (230 U. A., 400 U. A., 320 U. A. et 650 U. A.). Nous rappelons qu'à ce maximum correspondait le taux le plus élevé de pseudo-globulines (3,45 gr. %, 4,92 gr. %, 3,08 gr. % et 4,87 gr. %).

En concordance avec les observations de V. Gara [14], qui avait obtenu des sérums beaucoup plus riches en anticorps chez les animaux ayant reçu préalablement des injections de globulines (eu- et pseudo-globulines), nous avons observé que le cheval 91, bien que soumis à un traitement identique à celui utilisé pour les autres chevaux, a donné à la fin de l'immunisation le sérum le plus riche en antitoxine. Cette richesse particulière en anticorps est vraisemblablement due aux qualités spéciales du sérum de cet animal chez lequel nous avions déjà noté une grande quantité de globulines même avant le début de l'immunisation.

⁂

Dans le tableau suivant, nous donnons les résultats des observations poursuivies chez ces mêmes chevaux pendant une période de deux ans et demi après la première année d'immunisation.

Les animaux ont continué à recevoir, dans la première quinzaine de chaque mois, deux ou trois injections (à des intervalles de 7 jours) de *400, 500* et *600 centimètres cubes* de toxine additionnée soit de tapioca, soit de $CaCl_2$.

Douze jours après, on pratiquait deux saignées, de 8 litres chacune, espacées par trois jours de repos.

VARIATIONS DU POUVOIR ANTITOXIQUE DES SÉRUMS FOURNIS PAR LES CHEVAUX 378, 371, 380 ET 91 DU 2 OCTOBRE 1930 JUSQU'AU 27 FÉVRIER 1933

	378	380	371	91
1930. 20 octobre	420 U. A.	200 U. A.	120 U. A.	700 U. A.
1931. 28 janvier	320	320	120	600
28 mars	320	250	80	400
30 mai	230	120		250
21 août	400	250	éliminé (1).	Mort (2).
5 décembre ...	400	250		
1932. 27 février	350	200		
27 avril	400	280		
27 juin	520	600		
27 août	450	350		
30 octobre	450	250		
27 décembre ...	500	350		
1933. *27 février*	*350*	*400*		

Un examen de l'équilibre protéique des échantillons de sérum prélevés le 27 février 1933, nous a donné les résultats suivants :

N° du cheval	Div. réfract.	Prot. tot.	Séro-alb.	Glob.	Eu-glob.	Pseudo-glob.	S/G	Titre antitox.
378	64,7	*9,84*	2,35	7,50	1,44	*6,06*	0,31	350 U. A.
380	63,7	*9,46*	2,31	7,15	1,94	*5,21*	0,32	400 U. A.

Ces déterminations montrent que *le déséquilibre protéique constaté pendant la première période d'immunisation antitétanique se maintient aussi longtemps que l'organisme élabore un sérum riche en antitoxine.*

Nous attirons l'attention sur le cheval *380* dont le sérum n'a pu atteindre une valeur antitoxique élevée et relativement stable que lorsque le taux des protéines totales est monté à environ 9,46 gr. %. Cette élévation était due surtout aux pseudo-globulines (5,21 gr. %), les séro-albumines et les eu-globulines ayant, au même moment, des valeurs inférieures à celles d'avant l'immunisation. Il semble que la richesse du sérum en anticorps est en rapport inverse avec le quotient séro-albumines/séro-globulines.

II. — *TOXINE DIPHTÉRIQUE*

4 chevaux : n^{os} 695, 696, 697 et 698, ont été immunisés d'après le schéma suivant :

13 février 1934. — 1re injection sous-cutanée avec un mélange de *25 centimètres cubes* d'une toxine titrant 40 U. antigéniques par cen-

(1) Cheval éliminé parce qu'il fournissait un sérum à titre antitoxique trop bas.

(2) Cheval que nous avons perdu à la suite d'une fracture du bassin.

timètre cube ; *DLM 1/2500* (1000 U. antigéniques) et de *25 centimètres cubes d'antitoxine* (5000 U. antigéniques).

16 février 1934. — *2e injection* sous-cutanée avec un mélange de *25 centimètres cubes de la même toxine* + 10 centimètres cubes de sérum antidiphtérique (2000 U. antigéniques).

19 février 1934. — *3e injection* sous-cutanée avec 25 centimètres cubes de la même toxine seule.

22 février 1934. — *4e injection* sous-cutanée de *40 centimètres cubes de la même toxine* (1600 U. antigéniques).

26 février 1934. — *5e injection* sous-cutanée de *60 centimètres cubes de la même toxine (2400 U. antigéniques).*

Le cheval 697, ayant manifesté des phénomènes d'intolérance à la suite de la dernière injection, ne reçoit que 20 centimètres cubes de la même toxine (800 U. antigéniques).

1er mars 1934. — *6e injection* sous-cutanée de *80 centimètres cubes de la même toxine* (3200 U. antigéniques).

Le cheval 697 ne reçoit que *60 centimètres cubes de la même toxine* (2400 U. antigéniques).

5 mars 1934. — *7e injection* sous-cutanée de *100 centimètres cubes de la même toxine* (4000 U. antigéniques).

8 mars 1934. — *8e injection* sous-cutanée avec *150 centimètres cubes de la même toxine* (6000 U. antigéniques).

15 mars 1934. — *9e injection* sous-cutanée avec *150 centimètres cubes de la même toxine* (6000 U. antigéniques).

22 mars 1934. — *10e injection* sous-cutanée avec *200 centimètres de la même toxine* (8000 U. antigéniques).

26 mars 1934. — *11e injection* sous-cutanée avec *250 centimètres cubes de la même toxine* (10.000 U. antigéniques).

Le cheval *698* ne reçoit plus cette dernière injection ; on le laisse au repos jusqu'au 3 avril, lorsqu'il est saigné à blanc.

29 mars 1934. — *12e injection* sous-cutanée avec *300 centimètres cubes de la même toxine* (12.000 U. antigéniques).

2 avril 1934. — *13e injection* sous-cutanée avec *350 ecntimètres cubes de la même toxine* (14.000 U. antigéniques).

5 avril 1934. — *14e injection* sous-cutanée avec *400 centimètres cubes de la même toxine* (16.000 U. antigéniques).

19 avril 1934. — *15e injection* sous-cutanée avec *600 centimètres cubes d'une toxine* à 30 U. antigéniques (18.000 U. antigéniques).

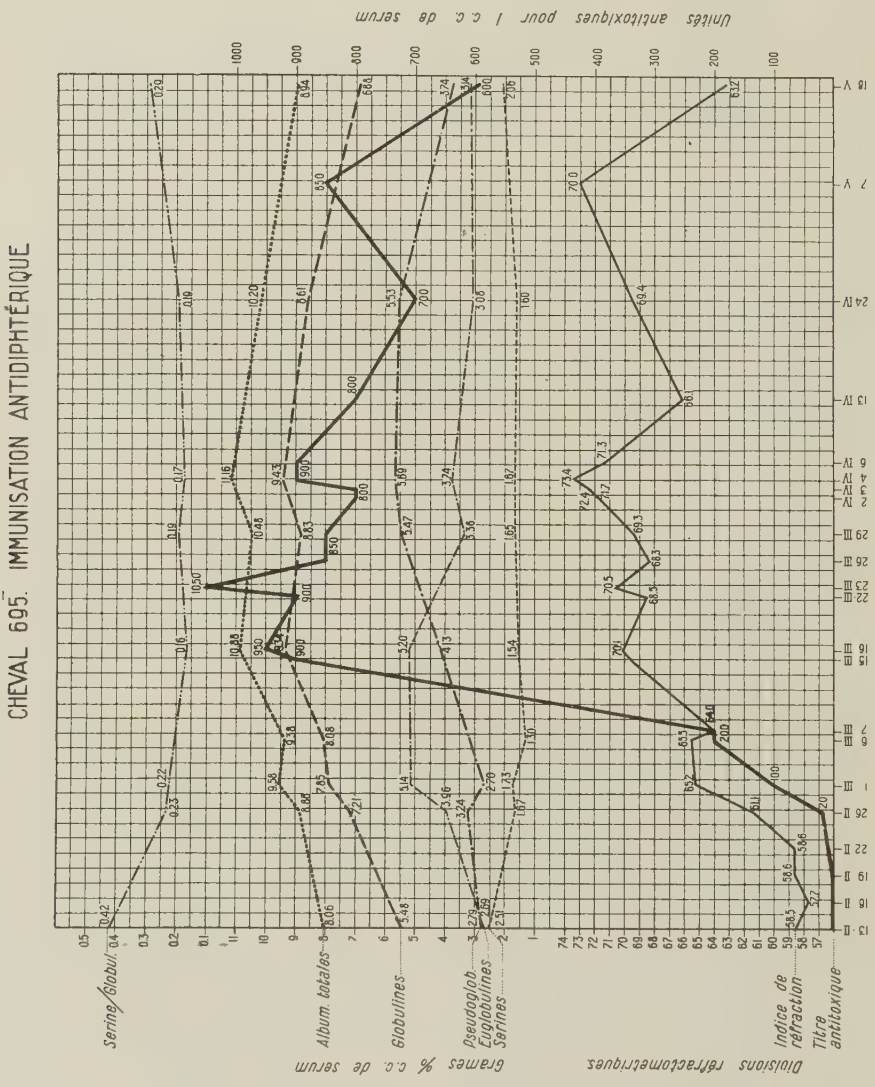
24 avril 1934. — *16e injection* sous-cutanée avec *550 centimètres cubes d'une toxine* à 37 U. antigéniques (19.000 U. antigéniques).

Le 15 et le 18 mai, on pratique deux saignées successives de 8 litres chacune.

L'examen du pouvoir antitoxique et de l'équilibre protéique des échantillons de sérum, recueillis avant et pendant toute la période d'immunisation, nous a donné les résultats que nous résumons dans les tableaux et graphiques suivants :

GRAPHIQUE. — **Cheval 695.**

Date de la prise de sang	Div. réfract.	Prot. tot.	Sérines	Globulines	Pseudoglob.	Euglob.	S/G.	Titre antitox. U. A.
	Grammes °/₀ cc. de sérum							
13 février, avant 1re *inj.*	58,5	8,062	2,51	5,48	2,79	2,69	0,42	—
16 février, avant 2e *inj.*	57,7	—	—	—	—	—	—	—
19 février, avant 3e *inj.*	58,6	—	—	—	—	—	—	—
19 février, en plein accès fébrile	—	—	—	—	—	—	—	—
22 février, avant 4e *inj.*	58,6	—	—	—	—	—	—	—
26 février, avant 5e *inj.*	61,4	8,88	1,67	7,21	3,24	3,96	0,23	20
1er mars, avant 6e *inj.*	65,2	9,58	1,73	7,85	2,70	5,14	0,22	100
4 mars, en plein accès fébrile	—	—	—	—	—	—	—	—
5 mars, avant 7e *inj.*	65,5	9,38	1,30	8,08	—	—	—	200
8 mars, avant 8e *inj.*	64	—	—	—	—	—	—	200
15 mars, avant 9e *inj.*	*69,6*	—	—	—	—	—	—	*900*
16 mars, en plein accès fébrile	*70,1*	*10,88*	1,54	9,34	4,13	*5,20*	0,16	*950*
22 mars, avant 10e *inj.*	68,5	—	—	—	—	—	—	900
23 mars, en plein accès fébrile	*70,5*	—	—	—	—	—	—	*1050*
26 mars, avant 11e *inj.*	68,3	—	—	—	—	—	—	850
29 mars. avant 12e *inj.*	*69,3*	*10,48*	1,65	8,83	5,47	3,63	0,19	850
2 avril, avant 13e *inj.*	71,7	—	—	—	—	—	—	800
3 avril, en plein accès fébrile	72,4	—	—	—	—	—	—	800
5 avril, avant 14e *inj.*	73 4	*11,16*	1,67	*9,43*	*5,69*	3,74	0,17	900
6 avril, en plein accès fébrile	71,3	—	—	—	—	—	—	900
19 avril, avant 15e *inj.*	66,1	—	—	—	—	—	—	800
24 avril, avant 16e *inj.*	69,4	10,20	1.60	8,61	5,53	3,08	0,19	700
7 mai	*73*	—	—	—	—	—	—	*850*
15 et 18 mai, 2 grandes saignées de 8 litres chacune.	63,2	8,94	2,06	6,88	3,74	3,14	0,29	600



Le cheval *695* avait déjà, avant le début de l'immunisation, un sérum relativement riche en protéines totales (8,06), respectivement en *globulines* (5,48 gr. %).

L'examen des tableaux et du graphique ci-joints nous montre une élévation progressive du taux des protéines due exclusivement aux *globulines* (eu- et pseudo-globulines); le taux des séro-

albumines baisse par contre à mesure que l'immunisation avance, sa valeur restant jusqu'à la fin inférieure à celle du début (1,60 gr. % au lieu de 2,51 gr. au commencement).

Après la 8e injection, 13 jours environ à partir du début de l'immunisation, le taux des globulines a atteint une valeur égale à *9,34 gr. %*, l'augmentation portant aussi bien sur les pseudo-globulines (4,13 gr. au lieu de 2,79) que sur les eu-globulines (5,20 gr. % au lieu de 2,69 %). Au même moment, on observe une élévation brusque du titre antitoxique qui de 200 U. A. par centimètre cube monte à 900 U. A. par centimètre cube. La richesse en protéines du sérum se maintient relativement constante, jusqu'à la fin de l'immunisation; il en est de même de sa richesse en anticorps.

Le 24 avril, on pratique une nouvelle injection de toxine. Le titre antitoxique du sérum est à 850 U. A., 10 jours après cette injection. Une nouvelle saignée, pratiquée après 8 autres jours, nous montre une diminution du titre antitoxique (650 U. A.) correspondant à une baisse du taux des pseudo-globulines. Le rapport sérines/globulines subit en sens inverse, pendant toute la période d'immunisation, les fluctuations du titre antitoxique.

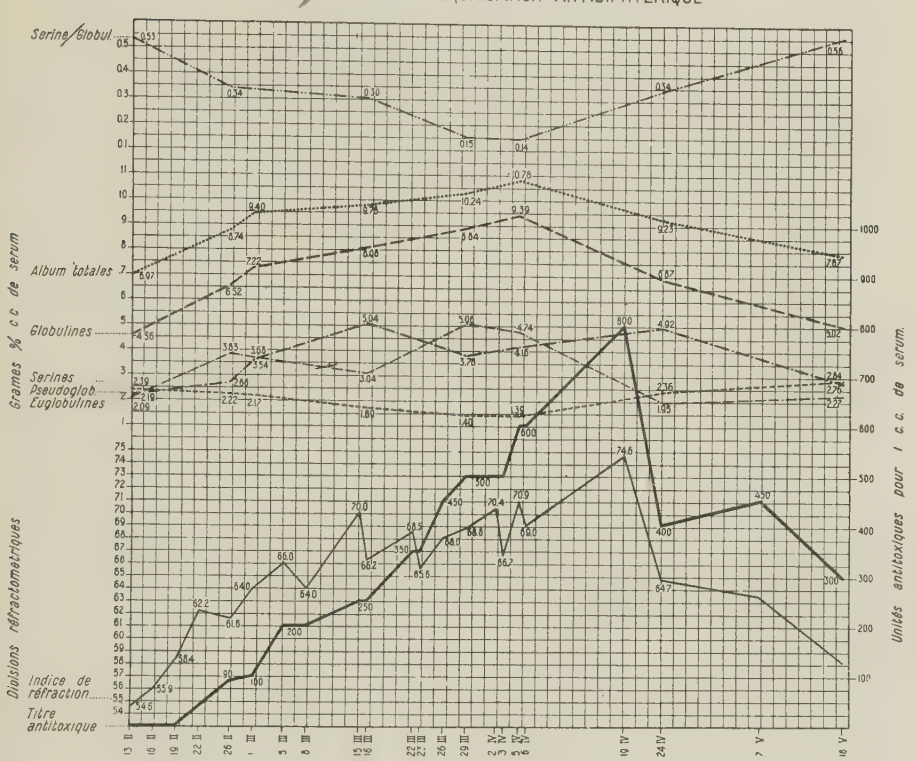
Le cheval *696* avait, avant le début de l'immunisation, non seulement un sérum relativement plus pauvre en protéines (6,97 gr. %), mais aussi le rapport sérines/globulines était nettement supérieur (0,53) à celui du sérum précédent (0,42).

A la suite des premières injections immunisantes, il y a une élévation brusque du taux des protéines totales (9,40 gr. %), respectivement des *globulines* (7,22 gr. %) (eu- et pseudo-globulines); le taux des séro-albumines baisse comme dans le cas précédent, à mesure que celui des protéines totales augmente. La richesse du sérum en antitoxine s'élève progressivement pour atteindre les valeurs les plus élevées (600 à 800 U. A.) entre la 14e et la 15e injection, *deux mois environ* après le commencement de l'immunisation.

Au même moment, le taux des protéines totales aussi bien que celui des globulines a atteint, après une augmentation continuelle, des chiffres de beaucoup supérieurs à ceux du début : 10 gr. 78 % au lieu de 6,97 %, et 9 gr. 39 % au lieu de 4,56 gr. %.

Cinq jours après la 5e injection, on constate une diminution brusque du titre antitoxique (de 800 U. A. à 400 U. A.), et malgré une 16e injection de toxine pratiquée le même jour, cette diminution persiste et s'accentue, de sorte qu'au moment des grandes

Date de la récolte du sérum	Div. réfract.	Prot. tot.	Sérines	Globulines	Pseudo-glob.	Euglob.	S/G.	Titre antitox. U. A.
	Grammes °/₀ cc. de sérum							
13 février, avant 1re *inj.*.....	54,6	6,97	2,39	4,56	2,19	2,09	0,53	—
16 février, avant 2e *inj.*.....	55,9	—	—	—	—	—	—	—
19 février, avant 3e *inj.*.....	58,4	—	—	—	—	—	—	—
19 février, en plein accès fébrile	—	—	—	—		—		-
22 février, avant 4e *inj.*.....	62,2	—	—	—	—			-
26 février, avant 5e *inj.*.....	61,6	8,74	2,22	6,52	2,68	3,83	0,34	80
4 mars, en plein accès fébrile	—	—	—	—	—	—	—	—
5 mars, avant 7e *inj.*.....	66	—	—	—	—	—	—	200
8 mars, avant 8e *inj.*.....	64	—	—	—	—	—	—	200
15 mars, avant 9e *inj.*.....	70	—	—	—	—	—	—	250
16 mars, en plein accès fébrile	66,2	9,76	1,69	8,08	5,04	3,04	0,30	250
22 mars, avant 10e *inj.*.....	68,5	—	—	—	—	—	—	350
23 mars, en plein accès fébrile	65,5	—	—	—	—	—	—	350
26 mars, avant 11e *inj.*.....	68	—	—	—	—	—	—	450
29 mars, avant 12e *inj.*.....	68,8	10,24	1,40	8,84	3,78	5,06	0,15	500
2 avril, avant 13e *inj.*.....	70,4	—	—	—	—	—	—	500
3 avril, en plein accès fébrile	66,7	—	—	—	—	—	—	*500*
5 avril, avant 14e *inj.*.....	*70,9*	*10,78*	1,39	*9,39*	*4,16*	*4,74*	0,14	600
6 avril, en plein accès fébrile	69	—	—	—	—	—	—	600
19 avril, avant 15e *inj.*.....	*74,6*	—	—	—	—	—	—	800
24 avril, avant 16e *inj.*.....	64,7	9,23	2,36	6,87	4,92	1,95	0,34	400
7 mai,	63,4	—	—	—	—	—	—	300
15 et 18 mai, 2 *grandes saignées* de 8 litres chacune.	58,8	7,87	2,84	5,02	2,76	2,27	0,56	300

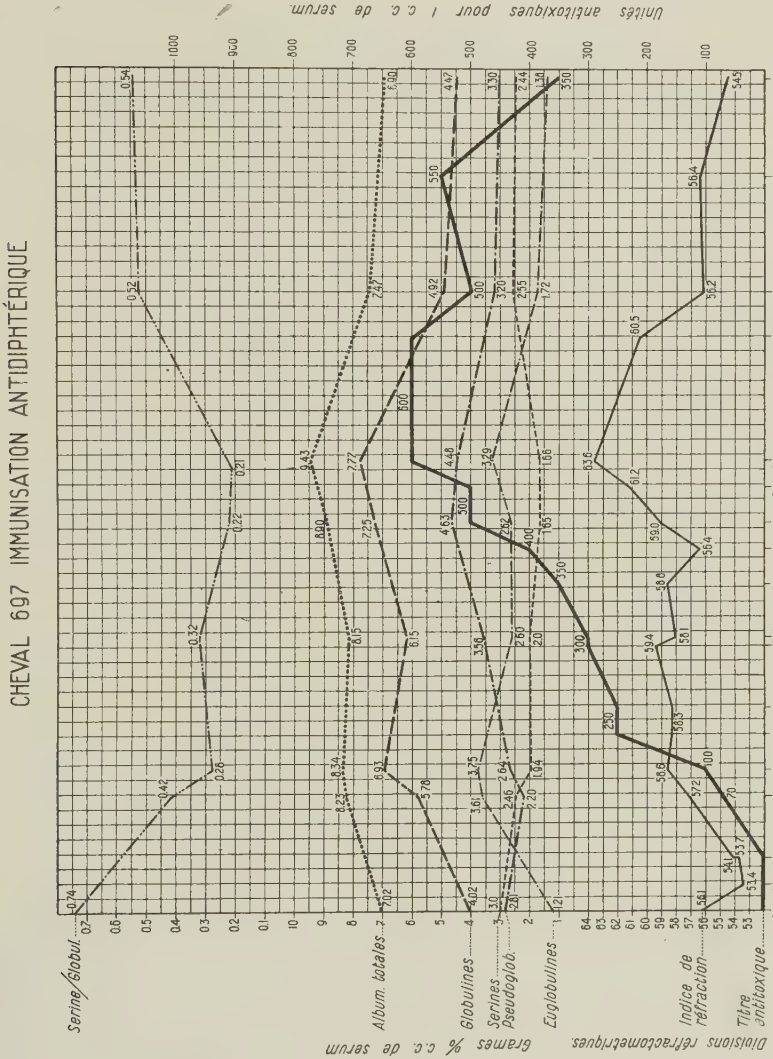


saignées, le cheval fournit un sérum pauvre en antitoxine (300 U. A.) comparativement à la richesse en antitoxine constatée au cours de l'immunisation. La courbe des globulines suit de près les variations du pouvoir antitoxique. Chez ce cheval, comme chez le précédent, le rapport sérines/globulines suit en sens inverse les fluctuations du titre antitoxique.

Le cheval *697* avait, avant l'immunisation, un sérum relativement pauvre en protéines (7 grammes %) qui se caractérisait en plus par un rapport sérines/globulines *très élevé* (0,74). Comme cet animal était très sensible aux inoculations de toxine diphtérique, nous avons été obligés, après les 4 premières injections, de modifier notre schéma d'immunisation et de lui injecter pendant un certain temps (5e et 6e injections) des doses plus petites de toxine. L'examen du graphique et du tableau ci-dessus montre qu'à la suite des 3 premières injections, il y a eu une baisse

GRAPHIQUE. — **Cheval 697.**

Date de la récolte du sérum	Div. réfract.	Prot. tot.	Sérines	Globulines	Pseudoglob.	Euglob.	S/G.	Titre antitox. U. A.
	Grammes °/₀ cc. de sérum							
13 février, avant 1re *inj*.....	56,1	7,02	3	4,02	2,81	1,21	0,74	—
16 février, avant 2e *inj*.....	53 4	—	—	—	—	—	—	—
19 février, avant 3e *inj*.....	53,7	—	—	—	—	—	—	0
19 février, en plein accès fébrile	54,1	—	—	—	—	—	—	—
22 février, avant 4e *inj*.....	—	—	—	—	—	—	—	
26 février, avant 5e *inj*.....	57,2	8,23	2,46	5,78	2.20	3,61	0,42	60-80
1er mars, avant 6e *inj*.....	58,6	8,34	1,94	6,93	2,64	3 75	0,28	100
4 mars, en plein accès fébrile	—	—	—	—	—	—	—	—
5 mars, avant 7e *inj*.....	58.3	—	—	—	—	—	—	250
8 mars, avant 8e *inj*.....	58,3	—	—	—	—	—	—	250
15 mars, avant 9e *inj*.....	59,4	—	—	—	—	—	—	300
16 mars, en plein accès fébrile	58.1	8,15	2	6 15	3,56	2,60	0,32	300
22 mars, avant 10e *inj*.....	58.6	—	—	—	—	—	—	350
23 mars, en plein accès fébrile	—	—	—	—	—	—	—	—
26 mars, avant 11e *inj*.....	56.4	—	—	—	—	—	—	400
29 mars, avant 12e *inj*.....	59	8,90	1,65	7,25	4,63	2,62	0,22	500
2 avril, avant 13e *inj*.....	61	—	—	—	—	—	—	500
3 avril, en plein accès fébrile	—	—	—	—	—	—	—	—
5 avril, avant 14e *inj*.....	63,6	9,43	1,66	7,77	4,48	3,29	0,21	600
6 avril, en plein accès fébrile	—	—	—	—	—	—	—	—
19 avril, avant 15e *inj*.....	60,5	—	—	—	—	—	—	600
24 avril, avant 16e *inj*.....	56.2	7,47	2 55	4,92	3,20	1,72	0.52	500
7 mai	56 4	—	—	—	—	—	—	550
15 et 18 mai, 2 *grandes saignées* de 8 litres chacune.	54,5	6.90	2.44	4,47	3.09	1,38	0,54	350

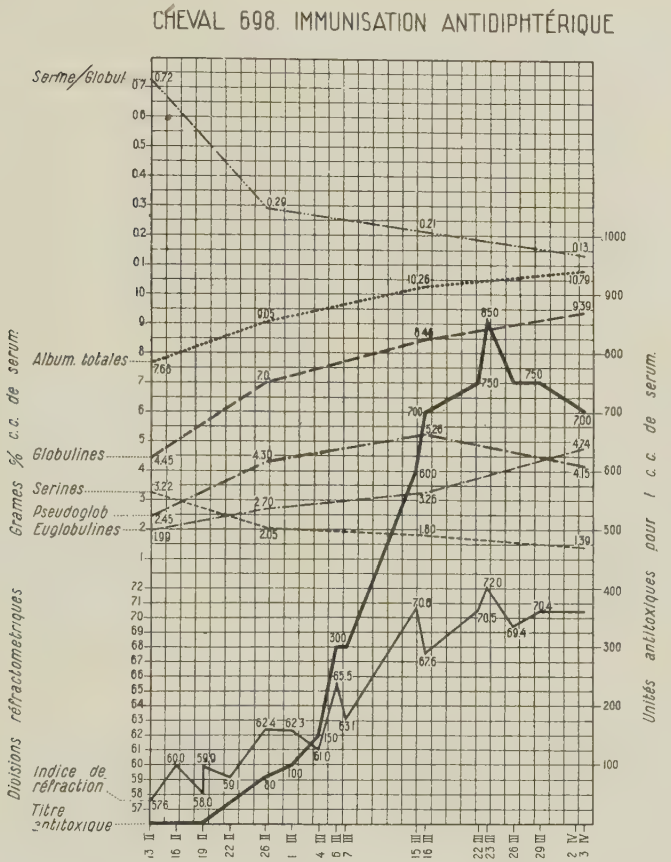


évidente du taux des protéines totales du sérum. Ce n'est qu'à partir de la 6e injection, 13 jours environ après le début de l'immunisation, lorsque le cheval était devenu beaucoup plus tolérant pour les doses de toxine inoculées, que le taux des protéines a commencé à s'élever. Les séro-albumines ont beaucoup diminué (1,94 gr. % au lieu de la valeur initiale 3 gr. %); — en même temps le taux des globulines s'est élevé de 4,02 gr. % à

GRAPHIQUE. — **Cheval 698.**

Date de la récolte du sérum	Div. réfract.	Prot. tot.	Sérines	Globulines	Pseudo-glob.	Eu-glob.	S/G.	Titre antitox. U. A.
	Grammes °/₀ cc. de sérum							
13 février, avant 1re *inj.*	57,6	7,68	3,22	4,45	2,45	1,99	0,72	—
16 février, avant 2e *inj.*	60	—	—	—	—	—	—	—
19 février, avant 3e *inj.*	58			—	—		—	—
19 février, en plein accès fébrile	59,9	—	—	—	—	—	—	—
22 février, avant 4e *inj.*	59,1	—	—	—	—	—	—	—
26 février, avant 5e *inj.*	62,4	9,05	2,05	7	4,30	2,70	0,29	80
1er mars, avant 6e *inj.*	62,3	—	—	—	—	—	—	100
4 mars, en plein accès fébrile	61	—	—	—	—	—	—	150
5 mars, avant 7e *inj.*	65,5	—	—	—	—	—	—	300
8 mars, avant 8e *inj.*	63,1	—	—	—	—	—	—	300
15 mars, avant 9e *inj.*	70,6	—	—	—	—	—	—	600
16 mars, en plein accès fébrile	*67,6*	*10,26*	*1,80*	*8,46*	*5,26*	*3,26*	*0,21*	700
22 mars, avant 10e *inj.*	*70,5*	—	—	—	—	—	—	750
23 mars, en plein accès fébrile	*72*	—	—	—	—	—	—	*850*
26 mars, avant 11e *inj.*	*69,4*	—	—	—	—	—	—	750
29 mars, avant 12e *inj.*	*70,4*	—	—	—	—	—	—	750
2 avril, avant 13e *inj.*	—	—	—	—	—	—	—	—
3 avril, en plein accès fébrile	*70,4*	10,79	*1,39*	*9,39*	*4,15*	*4,74*	*0,13*	700

6,93 gr. %), l'élévation étant en faveur surtout des *eu-globulines* (3,61 gr. % au lieu de 1,21 gr. %). La richesse du sérum en antitoxine s'accentue au fur et à mesure qu'augmente le taux des globulines (pseudo- et eu-globulines).



Entre la 14e et la 15e injection, *deux mois environ après le commencement* de l'immunisation, le titre antitoxique du sérum est égal à *600* U. A., le taux des globulines s'est élevé de 4 gr. % à *7,77* gr. %, le rapport sérines/globulines a considérablement baissé (*0,21* au lieu de 0,74 du début).

Après la 15e injection, on observe une baisse du taux des protéines totales portant surtout sur les globulines (eu- et pseudo-globulines). Au moment des grandes saignées (15 et 18 mai, l'équilibre protéique du sérum est revenu à peu près à la normale, la courbe du titre antitoxique ayant subi à son tour une chute considérable (350 U. A. au lieu de 600 U. A.).

L'examen du graphique et du tableau exprimant la marche de l'immunisation chez le cheval 698 nous montre que déjà, après

les premières injections, on constate une élévation rapide du taux des protéines totales, respectivement des globulines.

Trente jours après le début de l'immunisation, les protéines totales et les globulines ont atteint des valeurs maxima (protéines totales, *10,26 gr. %* ; globulines, 8,46 gr.; pseudo-globulines, 5,26 gr. %; eu-globulines, 3, 26 %). Le titre antitoxique s'élève à mesure qu'augmentent les globulines, pour atteindre au même moment une valeur égale à 700-850 U. A. par centimètre cube de sérum. Le déséquilibre protéique, de même que la richesse en antitoxine du sérum, se maintiennent jusqu'à la fin de la période d'immunisation.

Résumé. — Chez le cheval en cours d'immunisation antidiphtérique, on constate une élévation progressive des protéines totales *due exclusivement aux globulines*; le taux des séro-albumines baisse par contre à mesure que l'immunisation avance, sa valeur restant jusqu'à la fin inférieure à celle du début. Le titre antitoxique du sérum s'élève au fur et à mesure qu'augmentent les globulines, la richesse du sérum en antitoxine se maintenant aussi longtemps que se maintient le déséquilibre protéique.

CONCLUSIONS

Au cours de l'immunisation des chevaux avec de la toxine diphtérique, aussi bien qu'avec de la toxine tétanique, il se produit un déséquilibre protéique notable du sérum. L'apparition de l'antitoxine dans la circulation n'est pas toujours conditionnée par ce déséquilibre. Pourtant, *aussi longtemps que l'on ne constate pas une augmentation notable du taux des protéines, respectivement des globulines* (eu- et pseudo-globulines), le titre antitoxique du sérum reste bas. *Un sérum n'acquiert un titre antitoxique assez élevé qu'après une augmentation appréciable du taux des protéines, respectivement des globulines.* Le taux des séro-albumines baisse en général à mesure que celui des protéines totales s'élève. Lorsque la courbe de l'antitoxine est à son niveau le plus élevé chez un animal en cours d'immunisation, le rapport du taux des séro-albumines à celui des globulines est représenté par des valeurs inférieures à celles constatées chez le même animal avant l'immunisation.

La persistance du déséquilibre protéique du sérum d'un animal en cours d'immunisation semble exprimer le maintien de sa richesse en antitoxine.

SÉRUMS ANTIMICROBIENS

(AGGLUTININES)

I. — *B. TYPHIQUE*

Cheval âgé d'un an, poids : 235 kilos. Prise de sang avant le début de l'immunisation.

L'antigène utilisé pour l'immunisation a toujours été inoculé par voie veineuse. Il consistait en un mélange de différentes souches de bacilles d'EBERTH, culture sur gélose de 24 heures, mises en suspension dans de l'eau physiologique à 0,85 %, à raison d'un tube de culture pour 10 centimètres cubes d'eau.

16 novembre 1928. — 1re inoculation : 0,5 cc. de suspension de microbes tués par la chaleur (1 heure à 58°). 2 heures après l'injection, la température du cheval, qui était de 36°8 avant l'injection, monte à 38°6. Le cheval a des frissons, un mauvais état général. Le lendemain, il se remet.

18 novembre. — 2e injection : 1 centimètre cube de suspension chauffée à 58°. 2 heures et demie après l'injection : température, 39°; frisson, transpiration; se remet les jours suivants.

22 novembre. — 3e injection : 1 centimètre cube de suspension chauffée à 58°. 4 heures après l'injection : température, 40°, sans autres phénomènes cliniques ; bon état général ; l'animal s'alimente.

26 novembre. — 4e injection : 2 centimètres cubes de suspension chauffée à 58°. 4 heures après : température, 40°; mauvais état général, pas d'appétit, frissons. On pratique avant et après l'injection d'antigène, lorsque l'animal est en pleine réaction fébrile, des saignées de 50 centimètres cubes chacune.

29 novembre. — 5e injection : 4 centimètres cubes de suspension microbienne chauffée à 58°. L'inoculation est faite en deux reprises: en premier, 1 centimètre cube, et demi-heure après, 3 centimètres cubes. 3 heures après la 2e injection : température, 40°3; respiration accélérée, mais un état général assez bon. On pratique deux saignées de 50 centimètres cubes chacune, avant l'inoculation d'antigène et après, en pleine réaction fébrile.

1er décembre. — 6e injection : 8 centimètres cubes de suspension chauffée à 58°, inoculés en deux reprises à demi-heure d'intervalle, 3 heures après la deuxième injection : température, 39°4. On pratique deux saignées de 50 centimètres cubes chacune, avant et après l'injection d'antigène.

4 décembre. — 7e injection : 16 centimètres cubes de suspension chauffée à 58°. Température, 39°9, vers la 3e heure après l'inoculation.

8 décembre. — 8e injection : 1/200 d'une culture vivante de 24 heures. Réaction presque nulle; température, 38°7.

10 décembre. — *9e injection : 1/70 d'une culture vivante de 24 heures.* Pas de réaction. Température, 38°. Deux prises de sang de 50 centimètres cubes, avant et après l'injection de germes.

12 décembre. — *10e injection : 1/10 d'une culture vivante de 24 heures.* 3 heures après l'injection, 39°2, bon état général.

15 décembre. — *11e injection : 1/5 d'une culture vivante de 24 heures.* 2 heures après l'injection, 29°2. Deux saignées de 50 centimètres cubes chacune, avant et après l'injection.

18 décembre. — *12e injection : 1/2 culture vivante de 24 heures.* 1 heure et demie après l'injection, 39°7. Prises de sang avant et après l'injection.

20 décembre. — *13e injection : 1 tube de culture vivante de 24 heures.* 2 heures après, 28°9; bon état général.

27 décembre. — *14e injection : 2 tubes de culture vivante de 24 heures.* Maximum de température, 12 heures après, 39°7. Prises de sang avant l'injection et lorsque l'animal a 39°7.

3 janvier 1929. — *15e injection : 4 tubes de culture vivante de 24 heures.* Température élevée, 1 heure après l'injection, 41°8, suivie d'une crise de frissons, gémissements, transpirations abondantes. L'inoculation a été faite à 10 heures du matin; ce n'est qu'à 19 heures que la transpiration cesse et que l'animal boit et mange. On a pratiqué des saignées avant l'injection et à 15 heures, lorsque la température était à 41°8 et que l'animal transpirait abondamment.

10 janvier. — *16e injection : 5 tubes de culture vivante de 24 heures.* La suspension de 1/20 est inoculée en 3 reprises : *10, 40* et *50 centimètres cubes,* à des intervalles de 1 heure, 5 heures après la dernière injection, la température de l'animal a atteint 41°. La transpiration, qui avait été très abondante, a presque cessé. Le lendemain, la température est à 39°8. Deux saignées sont pratiquées avant l'injection et 20 heures après l'injection, alors que le cheval recommençait à boire et à manger. Température, 39°8.

19 janvier. — Saignée de 4 litres. *Le 23 janvier,* nouvelle saignée de 4 litres.

6 février. — Saignée de 4 litres de sang.

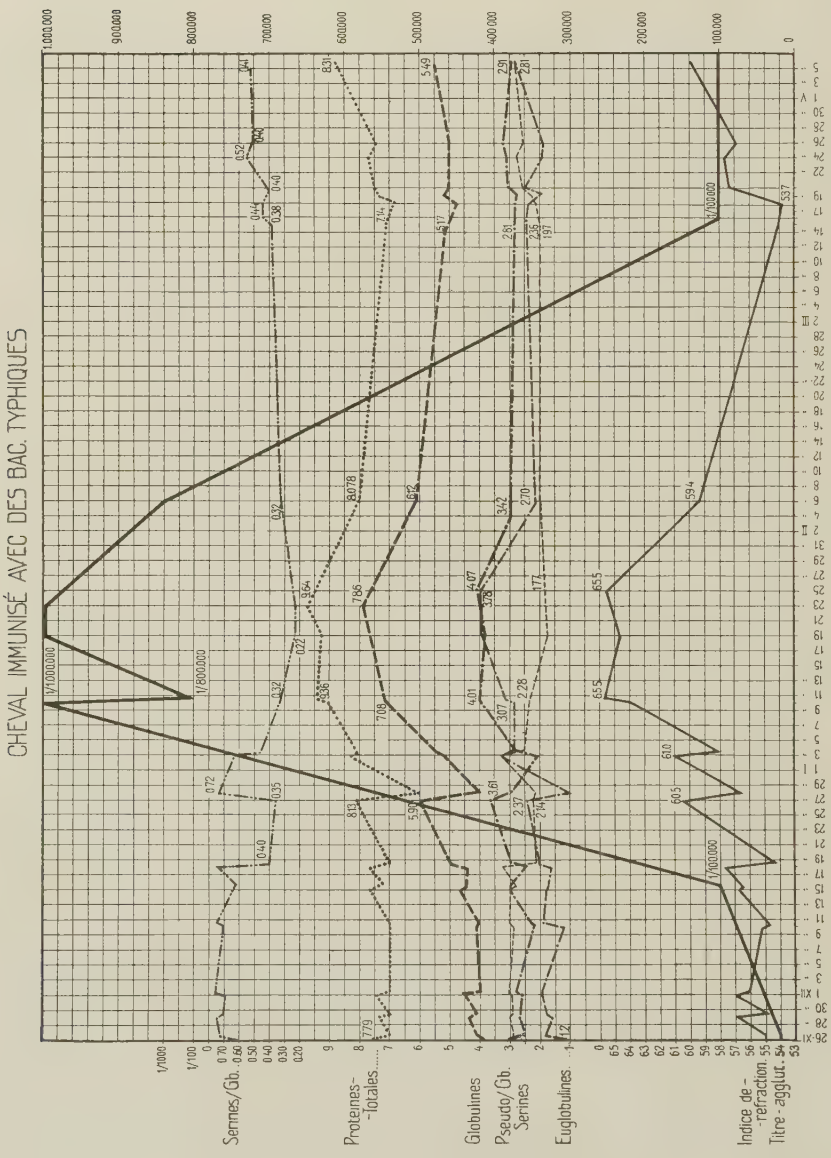
15 mars. — Nouvelle saignée de 2 litres de sang.

Nous attirons l'attention sur le fait que, malgré les ascensions thermiques notables (40°-41°) dans les premières 24 heures qui suivaient les injections d'antigène, l'état général du cheval a été excellent, le poids de l'animal (235 kilos au début) ayant légèrement augmenté jusqu'à la fin de l'immunisation (250 kilos). Ce n'est que vers la fin du traitement (15e et 16e injections) que la température élevée s'est maintenue plus longtemps et que le retour à la normale a été plus lent (6-8 jours). Il faut de plus mentionner que ces deux dernières injections ont déterminé chez l'animal des réactions générales assez violentes, une grande ascension thermique et un état d'agitation très accentuée suivie d'une crise de sueurs profuses.

GRAPHIQUE. — **Cheval immunisé avec des B. typhiques.**

Date de la prise de sang	Div. réfract.	Prot. tot.	Séro-alb.	Globu-lines	Eu-glob.	Pseude-glob.	S/G.	Titre agglutin.
	Grammes °/₀ cc. de sérum							
16 novembre 1928, avant *1re inj.*	55	7,02	3,20	3,85	1,15	2,71	0,82	1/100
26 novembre, avant *4e inj.*	58,3	7,71	2,89	4,81	1,80	3,01	0,60	1/1.000
après » »	55	7,02	2,92	4,10	1,58	2,13	0,71	1 10.000
29 novembre, avant *5e inj.*	57	7,45	3,02	4,43	1,53	2,70	0,73	1/10.000
après » »	54,8	7	2,89	4,11	1,91	2,20	0,70	1/10.000
1er décembre, avant *6e inj.*	57,1	7,45	2,96	4,49	1,87	2,60	0,69	1/10.000
après » »	56,2	7,02	3	4,02	1,21	2,81	0,74	1/10.000
10 décembre, avant *9e inj.*	55,1	7,07	2,89	4,13	1,92	2,21	0,70	1/10.000
après » »	54,6	7,07	3,03	4,04	1,82	2,22	0,79	1/10.000
15 décembre, avant *11e inj.*	56,8	7,69	3	4,69	1,70	2,89	0,69	1/10.000
après » »	56,5	7,20	2,77	4,43	1,55	2,89	0,62	1/100.000
18 décembre, avant *12e inj.*	57,6	7,67	3,23	4,45	1,94	2,45	0,72	1/100.000
après » »	54,3	7,03	2,04	4,99	1,99	3	0,40	1/100.000
27 décembre, avant *14e inj.*	60,5	8,14	2,15	5,99	2,39	3,61	0,35	1/100.000
après » »	56,4	6,08	2,09	3,99	1,08	2,91	0,52	1/100.000
3 janvier 1929, avant *15e inj.*	61	8,36	3,22	5,14	3,25	1,89	0,62	1/200.000
après » »	58,4	8,09	2,51	5,48	2,69	2,79	0,45	1/400.000
10 janvier, avant *16e inj.*	*63,8*	9	—	—	2,80	—	—	*1/1.000.000*
après » »	*65,5*	*9,37*	2,28	*7,08*	*3,07*	*4,01*	*0,32*	*1/800.000*
19 janvier, *1re saignée* de 4 litres	*64,6*	*9,24*	*1,68*	7,56	*3,81*	*3,75*	*0,22*	*1/1.000.000*
23 janvier, *2e saignée* de 4 litres	*65,5*	*9,64*	*1,78*	*7,86*	*3,78*	*4,07*	*0,22*	*1/1.000.000*
6 février, *3e saignée* de 4 litres	59,4	8,08	1,95	6,12	2,70	3,42	0,32	1/800.000
15 février, *4e saignée* de 4 litres	54	7,15	*1,97*	*5,18*	2,36	2,18	*0,38*	1/100.000

L'examen du tableau et du graphique ci-contre nous montre que, pendant l'immunisation de ce cheval avec des bacilles typhiques, il y a eu une augmentation progressive et continue du taux des protéines totales du sérum. Cette augmentation, *lente*



et peu marquée pendant les six premières semaines, s'est accentuée brusquement après les 15e et 16e inoculations, pour s'élever à 9,64 gr. % cc. (au lieu de 7 grammes du début) au moment où le titre agglutinant du sérum, qui n'avait pas dépassé 1/100.000,

atteint lui aussi brusquement son maximum 1/1.000.000. L'augmentation des albumines totales porte surtout sur les globulines (eu-globulines, 3,78 gr. % au lieu de 1,14 du début et pseudo-globulines *4,07 gr.* % au lieu de 2,71 gr. % du début). Le taux des sérines baisse constamment pendant toute la période d'immunisation et est arrivé à un minimum lorsque celui des globulines avait atteint un maximum.

Chaque ascension thermique est accompagnée d'un abaissement brusque du taux des protéines, qui se rétablit dès que la température est revenue à la normale. Ce n'est que tout à fait vers la fin de l'expérience (16e inoculation) qu'on n'observe plus d'abaissement du taux des protéines totales, malgré l'ascension de la température qui se maintient plusieurs jours au-dessus de la normale.

Ces diverses valeurs se maintiennent presque sans oscillations à un niveau très élevé pendant une quinzaine de jours après la dernière inoculation d'antigène. A ce moment, on constate un abaissement du titre des anticorps, de même que du taux des protéines totales. Au bout de deux mois de repos, le taux des protéines totales du sérum est revenu au niveau des limites initiales, tandis que le titre agglutinant était encore égal au 1/100.000. Mais, fait important à noter, malgré l'abaissement du taux des protéines totales, le rapport sérines/globulines est resté nettement inférieur à celui du début (*0,38* au lieu de 0,82), le taux des sérines étant encore très bas, presque un tiers de sa valeur initiale, tandis que les globulines dépassent de beaucoup (5,17 gr. %) leur valeur d'avant le début de l'immunisation (3,85 gr. %).

II. — *VIBRIONS CHOLÉRIQUES*

1° Cheval Zlot : 220 kilos, immunisé avec le vibrion *K 1473.*

2° Cheval Suzanne : 240 kilos, immunisé avec le vibrion *Pottevin.*

11 février 1933. — 1 centimètre cube d'une culture de 24 heures émulsionnée dans 10 centimètres cubes de sérum physiologique.

17 février. — 1 centimètre cube d'une culture de 24 heures émulsionnée dans 5 centimètres cubes de sérum physiologique.

Ces deux premières injections ont été faites *sous la peau* ; toutes celles qui suivent ont été faites *par voie intraveineuse.*

25	*février.*	— *1*	*cc.*	d'une	culture	de 24	heures	diluée à	1/1000.
28	»	— *1*	»	»	»	»	»	»	1/500.
3	*mars.*	— *1*	»	»	»	»	»	»	1/250.
6	»	— *1*	»	»	»	»	»	»	1/125.
10	»	— *1*	»	»	»	»	»	»	1/50.
14	»	— *1*	»	»	»	»	»	»	1/25.
18	»	— *1*	»	»	»	»	»	»	1/10.
22	»	— *1*	»	»	»	»	»	»	1/4.
27	»	— 1/2	tube	de	culture	de 24	heures.		
4	*avril.*	— 1	»		»		»	»	
8	*mai.*	— 1/2	»		»		»	»	
27	»	— 1	»		»		»	»	
23	»	— 1 1/2	»		»		»	»	
30	»	— 2	»		»		»	»	
17	*juin.*	— 2 1/2	»		»		»	»	

Les animaux ont très bien supporté même les fortes doses de vibrions vivants, leur poids ayant légèrement augmenté jusqu'à la fin de l'immunisation.

Zlot, 240 kilos, et Suzanne, 260 kilos.

A la suite de chaque injection, ils réagissent avec fièvre, frissons et transpirations, phénomènes qui disparaissent au bout de 24 à 48 heures. Des prises de sang ont été faites avant et dans les 24 heures qui suivaient chaque injection, et le sérum récolté a été examiné du point de vue de son pouvoir agglutinant et de l'équilibre des protéines.

Voici un tableau résumant les résultats des déterminations faites avant et au cours de l'immunisation (p. 307).

Pendant l'immunisation avec des vibrions cholériques, nous avons constaté dans une première période, avant même que l'équilibre des protéines ait présenté des modifications appréciables, une élévation lente du titre agglutinant du sérum.

Au bout de deux mois seulement, les protéines totales du sérum chez un des chevaux (Suzanne) ont commencé à augmenter. L'augmentation intéressait, dans ce cas, surtout les *globulines* (eu- et pseudo-globulines).

A l'augmentation des protéines correspond une élévation du titre agglutinant du sérum qui monte brusquement de 1/250.000 à 1/1.224.000 au moment où le taux des globulines s'est élevé de 3,90 gr. % à 5,61 gr. %.

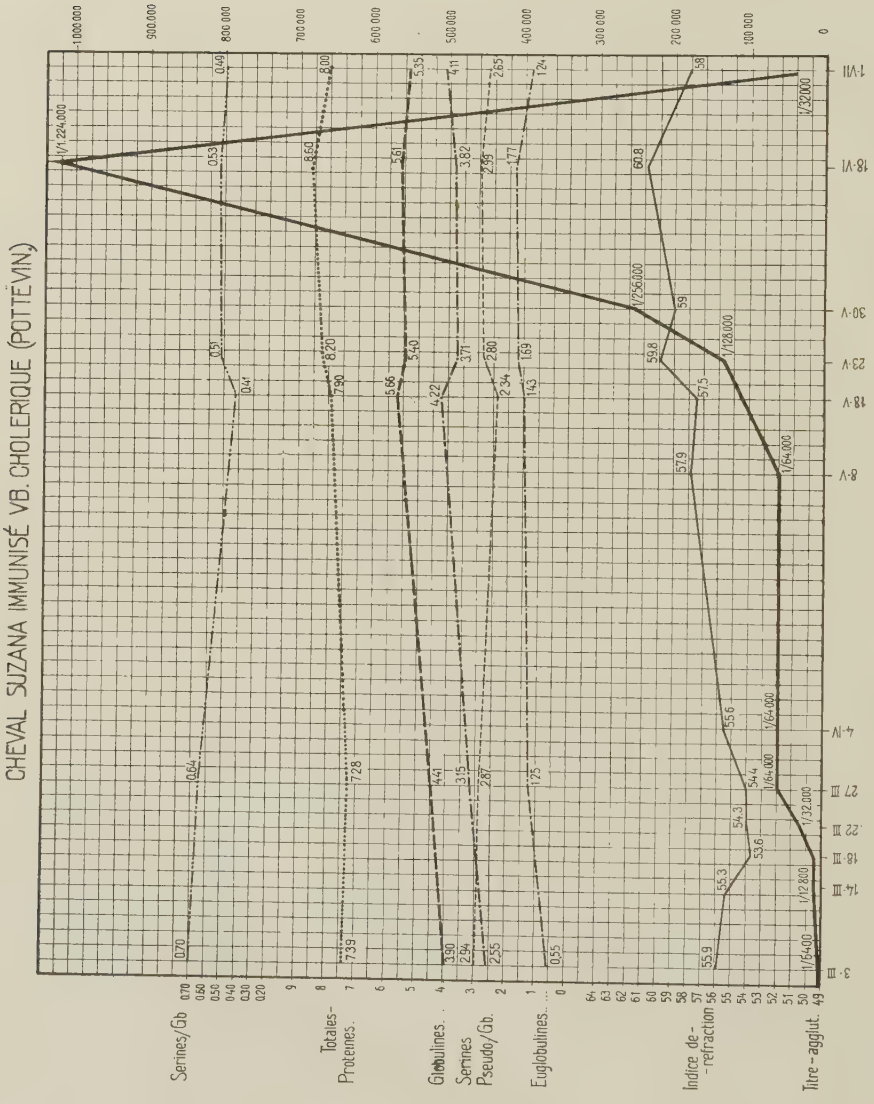
Le cheval Zlot, bien que soumis au même traitement, ne présente pas de modifications appréciables dans l'équilibre protéique de son sérum. Il en est de même de son titre agglutinant qui n'a jamais dépassé la valeur de 1/64.000.

1933		Div. réfract.	Prot. tot.	Séro-alb.	Séro-glob.	Eu-glob.	Pseudo-glob.	S/G.	Titre agglutin.
		Grammes °/₀ cc. de sérum							
3 mars,	Zlot....	52,4	7,04	2,69	4,35	1,69	2,77	0,61	1/3 200
	Suzanne	55,9	7,39	2,94	3,90	0,55	2,35	0,70	1/6.400
14 mars,	Zlot....	52,9	—	—	—	—	—	—	1/12.800
	Suzanne	55,3	—	—	—	—	—	—	1/12 800
18 mars,	Zlot....	52,6	—	—	—	—	—	—	1/12.800
	Suzanne	53,6	—	—	—	—	—	—	1/12.800
22 mars,	Zlot....	51,7	—	—	—	—	—	—	1/32.000
	Suzanne	54,3	—	—	—	—	—	—	1/32.000
27 mars,	Zlot....	50,7	—	—	—	—	—	—	1/32.000
	Suzanne	54,4	7,28	2,87	4 41	1,25	3,15	0,64	1/64.000
4 avril,	Zlot....	50,4	6,65	2.67	3,95	1,03	2,83	0,67	1/32.000
	Suzanne	55,6	—	—	—	—	—	—	1/64.000
8 mai,	Zlot....	49,4	—	—	—	—	—	—	1/32.000
	Suzanne	57,9	—	—	—	—	—	—	1/64.000
18 mai,	Zlot....	51	6,38	2,89	3,49	1	2,39	0,82	—
	Suzanne	57,5	7,90	2,34	5,66	1,43	4,22	0,41	—
23 mai,	Zlot....	50,4	6,20	2,89	3,31	1,10	2.21	0,87	1/32 000
	Suzanne	59,8	8,20	2,80	5,40	1,69	3,71	0,51	1/120 000
30 mai,	Zlot....	53,1	—	—	—	—	—	—	1,32.000
	Suzanne	59	—	—	—	—	—	—	1/256.000
18 juin,	Zlot....	53	6,90	3,02	3,88	1,61	2,27	0,77	1,64.000
	Suzanne	60,8	*8,60*	2,99	*5,61*	1,77	*3,82*	0,53	1/1.224.000
Les chevaux sont laissés au repos pendant 12 jours. On pratique une nouvelle saignée et on constate :									
1er juillet,	Zlot....	53,4	6,87	2,91	3,96	1,21	2,75	0,70	1/32.000
	Suzanne	58	8	2,65	5,35	1,24	4,11	0,49	1/32 000

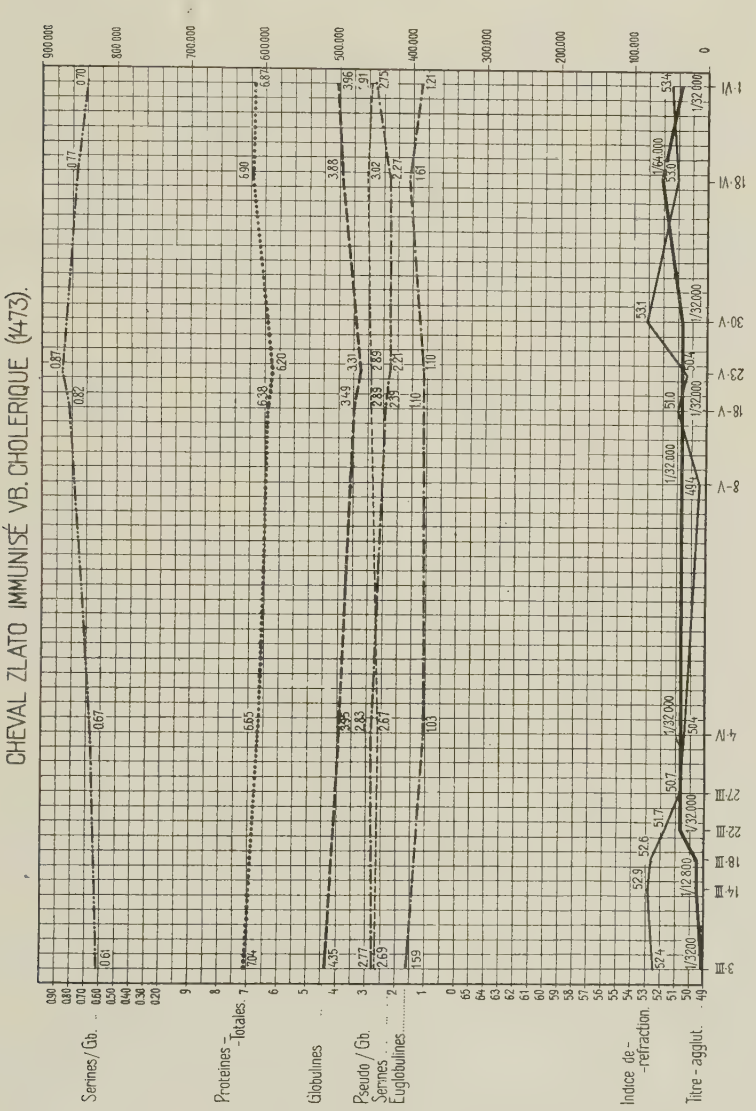
Nous sommes enclins à attribuer cette discordance aux qualités différentes des antigènes utilisés. Tandis que, d'après nos observations, le vibrion Pottevin est une race stable, ne présentant jamais des variantes au cours des repiquages, le vibrion K 1473 est un type essentiellement dissociable en S et R. Nous reviendrons, dans un travail ultérieur, sur cette observation.

III. — *B. COLI*

Chevaux *386* et *370*. — L'immunisation a été conduite d'après le protocole déjà exposé pour le bacille typhique avec de petites variations imposées par le mode de réaction des animaux.



Début de l'immunisation, le *16 décembre 1929*. Les chevaux reçoivent pendant 4 mois, à des intervalles de 3 à 4 jours, des injections intraveineuses d'émulsion de 1/10 de culture sur gélose de 24 heures, chauffées pendant 1 heure à 38°. La première injection est de 1/100 de culture; on augmente progressivement jus-



qu'à 2 tubes de culture pour une injection. Les *animaux réagissent au début* avec une forte fièvre de 39° à 40°; ils reviennent vite à un état normal et supportent assez bien cette première partie de l'immunisation. Le 17 avril, commence l'inoculation de *bacilles vivants* avec 1/5000 de culture de 24 heures. Les animaux suppor-

tent assez bien les premières injections de bacilles vivants, mais lorsqu'en augmentant les doses on arrive à leur inoculer 1/150 d'une culture de 24 heures (1er juillet), ils ont des réactions violentes consistant en forte fièvre, état général mauvais. Un des chevaux *(370)* meurt le 8 août 1930, à la suite de l'inoculation.

On continue l'immunisation du cheval 346. Lorsqu'on lui injecte 1/10 de culture vivante, il fait une grande ascension thermique (39°5-40°) qui dure quelques jours. A la suite des injections suivantes, la fièvre persiste, l'état général du cheval est de plus en plus mauvais et il succombe le 26 octobre.

	Indice de réf.	Prot. tot.	Séro-alb.	Globulines	Euglob.	Pseudoglob.	S/G.	Titre agglutin.
	Grammes °/₀ cc. de sérum							
16 décembre,								
386	56,9	7,84	2,09	5,75	4	1,75	0,36	—
370	57	7,98	2,09	5,90	3,98	1,92	0,35	—
18 décembre.								
386	56,6	7,89	2,16	5,73	4,05	1,68	0,37	—
370	58,7	8,56	2,15	6,41	4,08	2,33	0,33	—
30 décembre.								
386	56,6	7,79	2,59	5,20	3,18	2,02	0,49	1/400
370	58,6	8,29	2,94	5,35	3,29	2,06	0,55	1/200
3 janvier,								
386	56,2	7,60	2,84	4,76	2,76	2	0,59	1/400
370	56,4	7,55	2,24	5,30	2,82	2,48	0,42	1/200
6 janvier,								
386	55,4	7,40	2,67	4,72	2,73	1,99	0,56	1/300
370	58,7	8,09	2,67	5,42	3,49	2,93	0,49	1/200
7 janvier,								
386	55,6	7,45	2,79	4,66	2,73	1,93	0,60	1/400
370	56,9	7,77	2,52	5,26	2,92	2,33	0,47	1/200

Comme on n'observait pas de variations importantes dans la concentration des différentes protéines, nous nous sommes contentés dans la suite de déterminer régulièrement l'indice de réfraction des différents échantillons de sérums, et de ne faire le dosage des protéines que lorsque l'indice réfractométrique nous indiquait des variations plus importantes.

Divisions réfractométriques et pouvoir agglutinant des différents échantillons de sérum à partir du 7 janvier jusqu'au 3 mai 1930.

Sérum	11/I	12/I	15/I	16/I	20/I	21/I	25/I	26/I	26/II	27/II	6/III	14/III
386.	57,5	54,7	54	56.2	55,2	55,3	56,6	55.2	57,2	53,6	55,7	56,8
370.	59	56	55,2	56.4	57	55,6	58	57,1	56,2	55	55,4	56,4

	15/III	22/III	23/III	30/III	31/III	17/IV	18/IV
386.....	54,5	55 1/*16.000*	52,3	55,5 1/*32.000*	53	56,4	55,9
370.....	55,8	55,4 1/*4.000*	55.1	56 1/*32.000*	55,5	57,3	57,2

	Div. réfract.	Prot. tot.	Séro-alb.	Globu-lines	Eu-glob.	Pseudo-glob.	S/G.	Titre agglutinant
3 mai 1930,								
386	57,9	8,20	2,52	5,68	2,71	2,97	0.44	1/*16.000*
370	57,7	8,33	2,21	6,07	2,82	3,20	0,37	1/*32.000*
4 mai 1930,								
386	58,2	8,45	2.51	5,94	3,34	2 59	0.42	1/*32.000*
370	*60*	8,65	2,42	6.23	3,11	3,12	*0,38*	1/*16.000*

Divisions réfractométriques et titre agglutinant des différents échantillons de sérum du 13 mai au 22 octobre.

Sérum	13/V	14/V	20/V	21/V	10/VI	11/VI
386.	57 *1/64.000*	*56,6 1/64.000*	*56,6 1/64 000*	56,6	57,3 *1/32.000*	56 *1/32.000*
370.	*59,3 1/32.000*	58,5 *1/64.000*	58,5 *1/64.000*	57,5	57,3 *1/32.000*	56 *1/32.000*

Sérum	23/VII	24/VII	30/VII	13/VII	13/VIII	14/VIII	23/VIII	24/VIII
386.	57.4 1/*16 000*	58,2 1/*32.000*	58,3 1/8.000	56,9 1/8.000	57.6	57,5	57,7	56,4
370.	62 1/*8.000*	61 1/*16.000*	⊕ avec phénomènes méningés					

	28/VIII	29/VIII	4/IX	5/IX	12/IX	13/IX	27/IX	28/IX	5/X	6/X	21/X
386.....	59,1	58,1	59,6	56,7 1/16.000	58,2	56,5	63	64	62	63,8	65,5

	Div. réfract.	Prot. tot.	Séro-alb.	Globu-lines	Eu-glob.	Pseuda-glob.	S/G.	Titre agglut.
22 octobre 1930.								
386.....	65,4	9,23	1,89	7,36	2.97	4,39	0.25	1/*400*

Le dosage des différentes fractions protéiques, parallèlement à l'étude du pouvoir agglutinant du sérum des chevaux inoculés avec des bacilles coli, nous a donné des résultats assez instructifs, quoique assez différents de ceux obtenus dans les cas précédents. Cette discordance est certainement due au fait que les chevaux supportent difficilement les inoculations avec ces genres et ils s'immunisent généralement très mal.

Dès le début de l'immunisation (inoculation de suspensions microbiennes chauffées à 58°), on constate de très fortes réactions après chaque injection d'antigène inoculée. Ils réagissent avec une forte fièvre et l'on constate en même temps une augmentation du poids des protéines totales du sérum, *augmentation qui intéresse, contrairement aux cas précédemment étudiés, en majeure partie la fraction séro-albumines.* Le taux des globulines augmente à peine ou même diminue.

Le titre agglutinant du sérum reste très bas et ce n'est que vers le troisième mois après le début de l'immunisation qu'on constate une augmentation appréciable du taux des agglutinines.

Cinq mois après, nous constatons chez les deux animaux, mais surtout chez le cheval *370*, une augmentation progressive de l'indice de réfraction et du taux des protéines totales. L'augmentation intéresse aussi bien les séro-albumines que les globulines, avec une tendance plus marquée du côté de ces dernières. La valeur du rapport séro-albumines/globulines exprime à ce moment d'ailleurs assez nettement les modifications de l'équilibre protéique dans ce sens.

Le titre agglutinant, qui jusqu'à ce moment n'avait pas dépassé des valeurs relativement basses, s'élève bientôt, après l'augmentation des protéines, à *1/64.000.*

Au cours de la dernière période de ces essais d'immunisation, nous observons que le taux des protéines totales, respectivement des globulines, a augmenté considérablement et a atteint les valeurs maxima quelques jours avant la mort des animaux. Le titre agglutinant du sérum par contre diminue progressivement (1/400).

CONCLUSIONS

Au cours de l'immunisation antimicrobienne des chevaux (bacilles typhiques, vibrions cholériques, bacille coli), l'apparition des anticorps (agglutinines) dans la circulation générale se fait avant qu'un déséquilibre protéique soit manifeste dans le sérum. Il faut remarquer que le titre agglutinant est relativement très bas à ce moment par rapport aux valeurs qu'il atteindra dans la suite.

Deux mois environ après le début de l'immunisation, il se produit un déséquilibre protéique qui se caractérise par une élévation du taux des protéines totales due exclusivement aux globulines (eu- et pseudo-globulines). Cette élévation s'accentue et atteint un maximum (9,65 %) au moment où le titre agglutinant, qui a augmenté à son tour, atteint les valeurs maxima (1/1.000.000).

Le taux des protéines totales, de même que le titre agglutinant, baisse rapidement pour revenir aux valeurs du début de l'immunisation; le déséquilibre protéique persiste pourtant, le rapport sérines/globulines restant nettement inférieur à celui d'avant le début de l'immunisation.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous avons examiné comparativement chez les chevaux en cours d'immunisation antitoxique ou antimicrobienne les variations de l'équilibre protéique du sérum sanguin et sa teneur en antitoxine ou agglutinine.

1° En ce qui concerne l'immunisation antitoxique (toxine tétanique et toxine diphtérique), voici nos constatations :

Au cours de l'immunisation, il se produit, à un moment donné, un déséquilibre protéique auquel correspond en général l'apparition de l'antitoxine. Ce déséquilibre s'accentue à mesure qu'avance l'immunisation et atteint un maximum vers le quatrième mois. *Il se traduit par une augmentation des globulines et le plus souvent une diminution des séro-albumines.* L'augmentation des globulines dépasse quantitativement de beaucoup la diminution des séro-albumines, de sorte qu'il ne s'agit certainement pas d'une transformation des séro-albumines en globulines.

Pendant la première phase de l'immunisation, c'est en général la fraction *Eu-globulines* qui augmente; elle atteint le taux le plus élevé vers le quatrième mois de l'immunisation. A partir de ce moment, elle commence à diminuer et à cette diminution correspond presque toujours une baisse du titre antitoxique.

Au fur et à mesure que l'immunisation antitoxique s'établit, les pseudo-globulines augmentent, leur taux dépassant de beaucoup celui du début; elles atteignent des valeurs maxima lorsque les chevaux semblent complètement immunisés. A l'augmentation des pseudo-globulines correspond régulièrement l'augmentation de la teneur en antitoxine du sérum.

Aussi longtemps que le titre antitoxique reste élevé, le déséquilibre protéique du sérum se maintient dans le sens indiqué.

3° Immunisation avec des corps microbiens. Chez les chevaux qui reçoivent des injections de corps microbiens (tués ou vivants), on observe dans la première phase de l'immunisation l'apparition d'anticorps agglutinants avant qu'un déséquilibre protéique appréciable apparaisse dans le sérum sanguin. Le titre agglutinant du sérum, à ce moment, est assez bas par rapport aux valeurs qu'il atteindra dans la suite.

Deux mois environ après le début de l'immunisation, on constate en général une élévation du taux des protéines totales qui augmente progressivement et atteint un maximum au moment où le titre agglutinant s'est élevé à son tour et est arrivé à des valeurs maxima (cheval, bacille typhique, pouvoir agglutinant : 1/1.000.000, lorsque le taux des protéines totales est égal à 9 gr. %; cheval, vibrion cholérique : 1/1.200.000, lorsque le taux des protéines totales est égal à 8 gr. 60.

L'élévation du taux des protéines totales est due aux globulines (les eu-globulines et pseudo-globulines sont également augmentées).

3° *Il résulte de ces recherches que le sens du déséquilibre protéique est un indice assez sûr de l'état d'immunisation d'un animal. L'augmentation des globulines du sérum par rapport aux sérines indiquerait l'immunisation qui s'établit, tandis que l'augmentation des sérines par rapport aux globulines (voir cheval Zlot, avec le vibrion K. 1473, et chevaux 386 et 370 avec des bacilles coli) indiquerait plutôt l'incapacité de l'organisme de s'immuniser.*

BIBLIOGRAPHIE

1. Achard et Arcand : « Sur le rapport des protéines et des lipides dans le sérum sanguin. » (*C. R. Soc. de Biologie*, 1929, v. 102, p. 986.)
2. Id. : « Etude comparée des protéines dans le sérum sanguin et les sérosités pathologiques. » (*C. R. Acad. des Sciences*, 1929, t. 189, p. 510.)
3. Achard, Grigaut et Codonnis : « Les variations pathologiques de la pression osmotique des protéines et de la composition protéinique du sérum sanguin. » (*Bull. Soc. Chimie Biologie*, 1930, t. 12, p. 417.
4. Achard (Ch.), Grigaut (A.), Codonnis (A.) et Boutroux (A.) : « Sur le quotient albumineux du sérum. » (*Bull. Acad. de Méd.*, 1929, t. 101, p. 725.)
5. Achard, Bariéty et Codonnis : « Les variations de l'équilibre protéique du sérum dans la tuberculose pulmonaire. » (*Bull. Acad. de Méd.*, 1929, t. 102, p. 153.)
6. Id. : « L'influence de l'accouchement sur l'équilibre protéique du sérum. » (*C. R. Soc. Biologie*, 1930, 103, p. 1064.)
7. Ascione (Gugliemo) : « Influenza delle sostanze proteiche sulla produzione di anticorpi. I. » (*Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.*, 1930, t. 5, p. 1038.)
8. Id. : « Influenza delle sostanza proteiche sulla produzione di anticorpi. II. » (*Ibid.*, 1930, t. 5, p. 1042.)
9. Atkinson (James) : « The fractional precipitation of the globulin and albumin of normal horse's serum and diphtheria antitoxin serum, and the antitoxic strenght of the precipitants. » (*Journ. of exp. Med.*, 1911, t. 67.)
10. Berger (W.), Petschacher : « Die Eiweisskörper im Blutplasma. » (*Folia Hæmatologica*, 1930, t. 40, p. 81.)
11. Id. : « Die Eiweisskörper im Blutplasma. II. u. III. Untersuchungsmethode. Die Chemie der Plasmaeiweisskörper. » (*Ibid.*, 1930, t. 40. p. 225.)
12. Breinl (Friedrich), Haurowitz (Félix) : « Chemische Untersuchungen der Präcipitate aus Hämoglobin und Anti-Hämoglobin-Serum und Bemerkungen über die Natur der Antikörper. » (*Hoppe-Seyler Zeitschrift*, 1930, Bd. 192, p. 45.)
13. Damboviceanu (A.) : « Les substances protéiques du sérum normal de cheval. » (*C. R. Soc. Biologie*, 1929, t. 101, p. 326.)
14. Gara (Paul v.) : « Ueber den Einfluss von parenteraler Vorbehandlung mit Serumfraktionen auf die Bildung von Antikörper (Agglutinien, Hämolysinen, Präzipitinen) und auf die bakteriziden Kräfte). » (*Zschrft. f. Immunitätsforschung*, 1930, LXV, p. 176.)
15. Herzfeld (E.) : « Ueber die proteolytische Wirkung der Eiweissabbauprodukte. » (*Biochemische Zeitschrift*, 1915, Bd. 70, p. 262.)
16. Herzfeld et Klinger : « Die Eiweissfraktionen des Blutplasma. I. Zur Theorie der Bakterien-Agglutination. II. » (*Biochemische Zeitschrift*, 1917, Bd. 83, p. 228.)
17. Huntoon (F.-M.) : « Antibody Studies. I. » (*Journ. of Immunology*, 1921, VI, p. 117.)
18. Huntoon (F.-M.), Massuci (P.) et Hanum (E.) : « Antibody studies. III. » (*Journ. of. Immunology*, 1921, VI, p. 185.)
19. Huntoon (F.-M.) et Craig : « Antibody studies. II. » (*Journ. of Immunology*, 1921, VI, p. 123.)
20. Hurwitz (S.-H.) et Meyer (K.-F.). : « Studies on the blood proteins. I. The serum globulins in Bacterial infections and Immunity. » (*Journ. of exp. Medicine*, 1916, XXCV, p. 515.)
21. Jonesco-Mihaiesti et Damboviceanu (A.) : « Modifications de certaines

constantes du sérum de cheval au cours de l'immunisation. » (*C. R. Soc. Biologie*, 1930, CIV, p. 1357.)

22. Landsteiner et Jagic (N.) : « Ueber Analogien der Wirkungen. » (*Wiener klinische Wochenschrift*, 1904, 17, 676.)
24. Ledingham (J.-C.-G.) : « On the relation of the antitoxin to the globulin-contact of the blood-serum during diphtheria immunisation. » (*Journ. of Hygiene*, 1907, VII, p. 65.)
25. Marrack (J.-R.) et Campbell (Smith) : « The composition of diphtheria toxin-antitoxin flocules. » (*Proc. of the Royal Soc. London*, 1930, t. 106, p. 1.)
26. Marrack (John) et Franck Campbell (Smith) : « Quantitative aspects in immunity reactions : the composition of the precipitate in precipitin reactions. (*British J. of exp. Pathology*, 1931, t. 12, p. 182.)
27. Reymann : « Untersuchungen über die pathologische Globulinsteigerung. I. Mitteilung. » (*Zschrft. f. Immunitätsforschung*, 1924, XLI, p. 209.)
28. Id. : « Untersuchungen über die pathologische Globulinsteigerung. II. e Mitteilung. » (*Ibid.*, 1924, XLI, p. 265.)
29. Id.: « Untersuchungen über die pathologische Globulinsteigerung. III. e Mitteilung. » (*Ibid.*, 1924, XLI, p. 284.)
30. Ruppel (W.-G.), Ornstein (O.), Carl (J.) et Lasch (G.) : « Lyophile und lyophobe Eiweisskörper als Antigen und Antikörper. » (*Zschrft. f. Hygiene*, 1922, XCVII, p. 188.)
31. Schierge (M.) : « Ueber die Beziehungen der Typhus-agglutinin zu den Eiweisskörper des Serums. » (*Zschrft. f. Immunitätsforschung*, 1920, Bd. 29, p. 527.)
32. Went (Stefan) : « Molecular movement, viscosity and agglutination. » (*Journ. of Immunology*, 1930, XX, pp. 347-356.)
33. Wolff : « Ueber den Gehlat den einzelnen Eiweissfraktionen des Serum. » (*Z. blatt f. Bakt.*, 1903, Bd. 33.)

RECHERCHES SUR LE MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ DANS LA TUBERCULOSE [1]

(Deuxième Mémoire)

(Influence de la réaction inflammatoire immédiate sur l'évolution de la lésion de réinfection cutanée)

par

M. NASTA

(Laboratoire de Médecine expérimentale et Institut de Sérologie « Docteur J. Cantacuzène », Bucarest)

Dans notre premier mémoire (2) sur le mécanisme de l'immunité dans la tuberculose, nous étions arrivés à la conclusion que les phénomènes d'hypersensibilité dont s'accompagne la réponse à la réinfection de l'organisme allergique, ne représentent pas le mécanisme de défense par lequel celui-ci réussit à entraver la progression de l'infection.

Dans ce mémoire, nous avions surtout envisagé une seule des manifestations de l'hypersensibilité, à savoir la précocité d'apparition du nodule tuberculeux. Mais en dehors de ce phénomène, la réinfection se manifeste encore par une réaction inflammatoire immédiate, apparaissant dans les premières 24 heures, et d'évolution tantôt très éphémère, séparée d'un intervalle de quelques jours, tantôt d'une intensité telle qu'elle persiste jusqu'à l'apparition du nodule, ou bien même aboutissant rapidement à la nécrose, et l'escarre suivie d'élimination pouvant, de par le fait

(1) Reçu le 15 septembre 1935.
(2) *Arch. roum. de Path. expér.*, t. 1, 1928, p. 541.

de cette expulsion de tous les tissus réinfectés, faire avorter complètement l'infection.

Les recherches dont nous voulons exposer plus loin les résultats ont eu pour but de préciser quelle était la part que cette réaction inflammatoire immédiate prenait au processus de défense de l'organisme, contre la réinfection tuberculeuse.

A cette fin, nous avons institué plusieurs expériences dont nous donnons plus bas les protocoles.

Première expérience. — Il s'agit d'un lot de cobayes, infectés très superficiellement sous la peau du ventre avec 0,02 mmgr. de bacilles virulents (souche bovine Vallée), et réinfectés de la même manière et avec la même dose de bacilles, avant l'apparition du nodule de primo-infection, c'est-à-dire après 2, 4, 6 et 8 jours.

Dans ces conditions, on constate que chez les animaux réinfectés le 6e et le 8e jour, parfois même chez ceux réinfectés le 4e jour, l'apparition du nodule de réinfection a lieu en avance sur celui de primo-infection, c'est-à-dire après 4, 2 et même 1 jour, sans cependant être précédée d'une réaction inflammatoire immédiate.

Cette apparition précoce du nodule de réinfection, se produisant avant la formation du nodule de primo-infection, c'est-à-dire pendant les premiers 8 à 10 jours, a été signalée aussi par d'autres auteurs (Sewall, Sawitsch et Butler) (1). Comme ces auteurs, tout en n'insistant pas spécialement sur le fait, ne font aucune mention de l'inflammation immédiate, il est à supposer qu'elle faisait défaut aussi dans leur expérience.

Il ressort donc de cette expérience que la précocité d'apparition du nodule de réinfection n'est pas conditionnée par l'existence d'une réaction inflammatoire immédiate.

Deuxième expérience. — Deux séries de cobayes sont sensibilisés, les uns avec 0,01 mmgr. de bacilles virulents (souche bovine Vallée), les autres avec 1 ctgr. de B. C. G. et réinfectés 24 et 34 jours plus tard, avec des doses variables de bacilles virulents.

Dans une série comme dans l'autre, quoique tous les cobayes aient répondu à la réinfection par une réaction inflammatoire immédiate, chez tous, le nodule est apparu après le même délai que chez les témoins (8 à 10 jours).

Nous voyons donc que non seulement la précocité dans l'apparition du nodule de réinfection peut se manifester sans qu'il y ait eu de réaction inflammatoire immédiate, mais qu'inversement aussi, celle-ci peut avoir lieu, dans certaines conditions, sans être suivie obligatoirement d'un nodule plus précoce.

(1) *Amer. Rev. Tuberc.*, t. 26, 1932, p. 1.

De ces deux expériences nous pouvons conclure que, réaction inflammatoire immédiate, transitoire ou de longue durée, probablement aussi la nécrose qui parfois s'ensuit, et précocité dans l'apparition du nodule de réinfection, sont des phénomènes de nature différente, soumis à des déterminismes différents, qui sont encore à préciser et à individualiser par de nouvelles recherches.

Si ces deux expériences nous permettent d'affirmer l'indépendance entre la réaction inflammatoire immédiate et la précocité d'apparition du nodule de réinfection, il restait encore à voir quelles étaient les relations entre cette inflammation et l'évolution ultérieure de la lésion de réinfection, et particulièrement la tendance à la régression que celle-ci manifeste généralement.

Il est certain que l'élimination des bacilles avec l'escarre, à laquelle parfois aboutit cette réaction, est pour beaucoup dans l'avortement de la réinfection; mais nous manquons de moyens pour pouvoir nous rendre compte si, indépendamment de l'élimination des bacilles, il se produit en même temps une lyse ou une altération de ceux-ci, ou tout autre mécanisme empêchant la multiplication des bacilles et la progression de la lésion, et surtout si ces phénomènes sont en fonction de la réaction inflammatoire précédant la nécrose, et proportionnels à son intensité. A cet effet, nous devrions pouvoir comparer l'évolution de réinfections déterminant des réactions inflammatoires d'intensités variables, mais n'aboutissant pas à l'escarre. Par les procédés courants d'expérimentation, il est cependant malaisé de réaliser cela, dans des conditions exactement comparables quant aux autres facteurs, notamment la dose de bacilles, ainsi que l'ensemble des réactions de défense, locales et générales, de l'organisme.

En effet, si, pour obtenir des réactions inflammatoires d'intensité variable, nous faisons varier la dose de bacilles, nous avons là un élément d'inégalité trop important pour pouvoir comparer les résultats; d'autre part, si c'est l'intervalle après lequel nous pratiquons la réinfection que nous faisons varier, c'est tout l'ensemble de réactions de défense qui varie d'un animal à l'autre.

Pour tourner cette difficulté, nous avons imaginé la méthode suivante. Sur des cobayes tuberculisés au même moment et avec la même dose de bacilles, nous pratiquons à un moment donné des réinfections avec une dose de bacilles assez petite pour ne pas déterminer par elle-même une réaction inflammatoire trop importante, en incorporant les bacilles à des quantités variables de tuberculine. Ceci permet de réaliser tous les degrés de réaction

inflammatoire immédiate, depuis les plus atténuées jusqu'à la nécrose et l'escarre, que cependant, pour les fins que nous poursuivons, nous n'avons aucun intérêt à atteindre.

Toutes les autres conditions étant parfaitement identiques, on peut par ce procédé apprécier la part qui revient à la réaction inflammatoire locale immédiate, dans la résistance de l'organisme vis-à-vis de la réinfection tuberculeuse.

Voici une expérience qui en fournit la preuve :

Troisième expérience. — Deux cobayes, injectés avec 0,01 mmgr. de bacilles virulents dans la cuisse, reçoivent un mois et demi plus tard, au flanc gauche, une injection intradermique avec 0,0001 mmgr. et une autre avec 0,001 mmgr. de bacilles virulents dans 0,1 cc. de sérum physiologique, tandis qu'au flanc droit ils reçoivent les mêmes doses de bacilles dans 0,1 cc. de tuberculine diluée au cinquième.

A l'endroit de l'injection des bacilles seuls, ils se produit un nodule qui apparaît après 48 heures pour la dose de 0,001 mmgr. et après 4 jours pour la dose de 0,0001 mmgr., augmentant progressivement de volume et évoluant vers la formation d'un petit abcès; tandis qu'à l'endroit des injections de bacilles et de tuberculine, il se produit une forte inflammation, prenant un caractère hémorragique et aboutissant à une escarre dont l'élimination est suivie de la formation d'une cicatrice, lisse, souple et sans le moindre empâtement.

Cette expérience, tout en démontrant que par la méthode préconisée on peut, toutes conditions par ailleurs égales, déterminer des réactions inflammatoires immédiates d'intensité voulue, met en même temps en évidence le rôle incontestable que joue, dans le mécanisme de défense, l'élimination des tissus infectés.

Restait à voir, comme nous nous l'étions proposé d'ailleurs, le rôle que dans cette défense il fallait attribuer à l'intensité de la réaction inflammatoire immédiate, indépendamment de l'élimination des tissus.

Les expériences qui suivent ont précisément pour but de préciser ces faits.

Quatrième expérience. — Un lot de cobayes est tuberculisé avec une même dose (0,01 mmgr.) de bacilles tuberculeux virulents de la souche bovine Vallée, injectée dans le derme, à la face interne de la cuisse gauche. A différents intervalles, un certain nombre de ces animaux ont été réinfectés, avec la même dose sur le flanc droit, par injection intradermique, les bacilles étant émul-

sionnés pour les uns dans 0,1 cc. d'eau physiologique, pour les autres dans la même quantité de tuberculine à des dilutions variables.

Voici les résultats de ces expériences :

Réinfection après 10 jours. — Sur trois cobayes, l'un reçoit 0,01 mmgr. de bacilles dans de l'eau physiologique; les deux autres, la même dose de bacilles dans de la tuberculine diluée au cinquième pour l'un, au dixième pour l'autre. Chez les premiers il y a, après trois jours, apparition d'un minime nodule qui augmente, s'ulcère et évolue progressivement, sans tendance à la régression. Les deux autres cobayes réagissent dans les premières 24 heures par une forte inflammation qui, en s'atténuant dans la suite, fait place à un nodule s'ulcérant et évoluant de manière tout à fait semblable à celui du cobaye féminin.

Réinfection après 20 jours. — Un cobaye reçoit des bacilles, les deux autres des bacilles et de la tuberculine, diluée au dixième pour l'un, au vingtième pour l'autre. Chez le premier, il se produit une inflammation modérée après 24 heures, suivie d'un nodule qui s'ulcère et évolue progressivement, quoique de dimensions beaucoup moins importantes que chez les cobayes réinfectés le 10e jour. Chez les deux autres cobayes ayant reçu des bacilles et de la tuberculine, l'inflammation est beaucoup plus importante que chez le premier; pourtant l'évolution de la lésion est identique.

Réinfection après 32 jours. — Sur 5 cobayes l'un reçoit des bacilles, les quatre autres des bacilles et de la tuberculine, diluée au cinquantième et au vingt-cinquième pour les deux premiers, au dixième pour les deux derniers. Chez les cobayes témoins (bacilles seuls), ainsi que chez les deux premiers (bacilles et tuberculine au cinquantième et au vingt-cinquième), l'inflammation est très intense, plus intense de beaucoup chez ces deux derniers, mais sans toutefois aboutir à la nécrose; il se forme par la suite un petit nodule qui augmente très peu et, après s'être ulcéré, manifeste une tendance très nette à la régression. Chez les deux cobayes ayant reçu des bacilles et de la tuberculine au dixième, l'inflammation aboutit à la nécrose, l'escarre s'élimine vers le 15e jour, laissant une cicatrice lisse, souple, non adhérente, sans la moindre trace d'œdème ou d'inflammation, donc guérison complète et avortement de l'infection.

Il ne fait aucun doute que cette fois-ci comme dans nos expériences antérieures, l'élimination de l'escarre a été un facteur de défense très important, déterminant l'avortement de l'infection et la guérison complète de la lésion. Dans tous les autres cas, en échange, nous constatons que l'intensité de l'inflammation artificiellement accrue par l'adjonction de tuberculine n'a pas modifié l'évolution du processus qui a été identique, toutes autres conditions égales, chez les animaux présentant des réactions inflammatoires d'intensité moindre.

Nous ne voulons pas dire par là que l'élimination de l'escarre soit le seul facteur efficace de défense. Il est bien connu, et nos expériences le prouvent une fois de plus, que, même avant d'en arriver là, la résistance de l'organisme à la réinfection est déjà manifeste et se traduit par une lésion de plus en plus réduite avec tendance marquée à la régression. *Ce qui ressort de nos expériences, c'est seulement le fait que, parmi les facteurs déterminant la résistance à la réinfection, la réaction inflammatoire immédiate n'entre pas pour une part importante, car nous n'avons pu constater aucun rapport entre l'augmentation d'intensité de cette dernière et la tendance vers la régression ou la guérison des lésions de réinfection.*

Dans une nouvelle série d'expériences, nous nous sommes proposé de réaliser en quelque sorte la contre-épreuve de nos recherches précédentes, en ce sens qu'au lieu de déterminer une augmentation d'intensité de cette réaction par injection simultanée de bacilles et de tuberculine, nous avons, au contraire, tâché d'en diminuer l'intensité, soit en exposant les animaux sensibilisés à l'action des rayons X, dont nous avions précédemment établi l'action atténuante sur les réactions allergiques (1), soit en pratiquant la réinfection avec des bacilles sensibilisés par un contact de 24 heures avec le sérum d'animaux tuberculeux, prélevé 48 heures plus tôt sur les cobayes mêmes, en expérience.

Cinquième expérience. — Un lot de cobayes est tuberculisé par injection de 0,01 mmgr. de bacilles virulents vivants (souche bovine Vallée) dans la peau de la cuisse, et réinfecté ensuite à différents intervalles (11, 22, 40 jours) avec la même dose injectée dans le derme de la paroi abdominale. A chaque réinfection, deux cobayes reçoivent des bacilles sans aucune préparation préalable, deux autres ayant été soumis, au cours de la semaine précédant la réinfection, à une ou deux séances de rayons X (exposition de 5 mm., 85 Kw., 4 m.-A., 30 cm. distance, filtre d'aluminium de 4 mm.); les deux derniers enfin recevant des bacilles sensibilisés comme il a été dit plus haut.

Afin d'éliminer les différences de réaction qui auraient pu résulter de l'action anergisante du traumatisme de la saignée, fait sur lequel ont insisté Valtis et van Deinse (2), nous avons toujours saigné, en même temps qu'un des animaux devant fournir le sérum à la sensibilisation des bacilles, un animal de chacun

(1) *C. R. Soc. Biologie*, t. 100, 1929, p. 906.
(2) *C. R. Soc. Biologie*, t. 109, 1932, p. 1247.

des autres groupes d'animaux d'expériences. Enfin, à l'occasion de chaque réinfection, deux cobayes neufs, témoins, recevaient la même dose de bacilles dans le derme.

Voici les résultats de ces expériences :

Réinfection après 11 jours. — A ce moment, la réaction à la tuberculine (0,01 cc.) est faible et inconstante :

1° *Cobayes neufs.* — Apparition d'un nodule minime le 9e jour, ulcéré le 25e, évolution progressive et généralisation de l'infection.

2° *Cobayes tuberculeux, sans préparation des animaux, ni des bacilles.* — Réaction inflammatoire discrète dans les premières 24 heures, qui se continue par un nodule ulcéré le 24e jour, avec évolution progressive et généralisation, quoique un peu retardée par comparaison aux témoins.

3° *Cobayes irradiés une fois, deux jours avant la réinfection.* — Absence de réaction inflammatoire immédiate; apparition d'un nodule minime le 3e et le 5e jour, même évolution ultérieure que chez les cobayes du 2e groupe.

4° *Cobayes réinfectés avec des bacilles sensibilisés.* — Pas de réaction inflammatoire immédiate, apparition du nodule le 5e et le 6e jour; évolution ultérieure comme dans les deux groupes précédents.

Réinfection après 22 jours. — La réaction à la tuberculine est nette, mais de moyenne intensité (0,01 cc.) :

1° *Cobayes témoins.* — Même évolution que plus haut.

2° *(Voir plus haut.)* Réaction inflammatoire dans les premières 24 heures, de la dimension d'une lentille, suivie de l'apparition d'un nodule, ulcéré le 20e jour, évoluant progressivement, mais avec une tendance déjà à la régression de la lésion locale; envahissement des ganglions tardif et discret.

3° *Cobayes irradiés deux fois au cours de la semaine précédant la réinfection.* — Chez les deux, il y a un minime nodule, dès le lendemain, précédé chez l'un d'eux par une légère inflammation passagère; l'évolution ultérieure est en tous points identique à celle décrite chez les cobayes du groupe précédent.

4° *(Voir plus haut.)* — Chez les deux cobayes, il y a une réaction inflammatoire, de dimensions moindres que chez ceux du 2e groupe; évolution ultérieure identique.

Réinfection après 40 jours. — Les cobayes réagissent fortement avec ecchymose et escarre, à la tuberculine (0,01 cc.).

Cobayes témoins. — Même évolution qu'au cours des expériences précédentes.

Chez les cobayes des 2e, 3e (irradiés deux fois) et 4e groupes, la réinfection détermine une réaction inflammatoire de très forte intensité, moindre cependant chez les cobayes irradiés, et surtout chez ceux inoculés avec les bacilles sensibilisés. Le 8e jour pour les deux premiers, le 5e pour ce dernier groupe, il ne subsite plus qu'un minime nodule, à peine ulcéré avec tendance très nette à la régression. A la mort des animaux, les ganglions axillaires sont à peine légèrement hypertrophiés, avec un ou deux minimes points caséeux.

En résumé, nous avons trouvé que l'exposition des cobayes à l'action des rayons X, ainsi que la sensibilisation des bacilles employés à la réinfection, par contact de 24 heures avec le sérum de cobayes tuberculeux, ont pour effet d'atténuer sensiblement l'intensité de la réaction inflammatoire immédiate provoquée par la réinfection avec des bacilles de Koch. *Cette atténuation ne modifie cependant pas les caractères de la lésion de réinfection qui évolue de même manière que celle déterminée par la même dose de bacilles chez des cobayes au même degré de sensibilisation.*

En ceci, nos expériences confirment les résultats obtenus par A. Boquet (1), en pratiquant les réinfections chez des animaux désensibilisés par un traitement tuberculinique. En même temps, elles constituent la contre-épreuve de nos propres expériences, ainsi que de celles de ce même auteur par lesquelles il avait été prouvé que l'intensité de la réaction inflammatoire n'avait pas d'influence sur l'évolution de la lésion de réinfection.

En conclusion de toutes nos expériences, il ressort que l'évolution favorable, témoin de résistance augmentée ou d'immunité de la lésion de réinfection, n'est pas influencée par le caractère de la réaction inflammatoire immédiate. Il n'y a pas de parallélisme entre l'évolution de la première et la précocité d'apparition du nodule de réinfection, il n'y a pas de parallélisme entre son intensité et l'évolution ultérieure de la lésion de réinfection.

Il s'agit, comme nous l'avions déjà précédemment soutenu, de phénomènes de nature différente, en fonction l'un et l'autre de la préexistence de l'infection tuberculeuse dans l'organisme, mais basés sur des mécanismes complètement différents et surtout ayant, quant à la défense de l'organisme, une signification tout à fait autre.

---

(1) *C. R. Soc. Biologie*, t. 112, 1933, p. 1168.

RECHERCHES SUR LE MÉCANISME DE L'IMMUNITÉ DANS LA TUBERCULOSE [1]

(Troisième Mémoire)

(Etude histologique de la lésion de réinfection intradermique chez le cobaye)

par

M. NASTA et E. CRACIUN

(Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale et de l'Institut de Sérologie « Docteur J. Cantacuzène », Bucarest)

Dans nos précédents mémoires sur le mécanisme de l'immunité dans la tuberculose, nous avions tâché de préciser par l'étude macroscopique de l'évolution de la lésion de réinfection tuberculeuse, la signification quant à l'immunité, comprise dans le sens restreint de résistance de l'organisme à la propagation de l'infection, des différents phénomènes par lesquels l'animal tuberculeux réagit à une nouvelle introduction de bacilles dans l'organisme.

Dans notre premier mémoire, nous avions étudié l'évolution de réinfection chez des animaux infectés avec des bacilles virulents et réinfectés de même avec des doses et à des intervalles de temps variables, ainsi que chez des animaux vaccinés par le B. C. G. et réinfectés eux aussi avec des bacilles virulents à doses et à intervalles différents.

Dans le second mémoire, nous avons étudié l'influence que la diminution ou au contraire l'exagération de la réaction inflammatoire immédiate, sous l'influence de différents facteurs (rayons X, sensibilisation des bacilles, adjonction de tuberculine

(1) Reçu le 15 septembre 1935.

aux bacilles de réinfection) exerçaient sur l'évolution ultérieure de la réinfection tuberculeuse.

Les résultats de ces recherches, les uns corroborant les autres, nous avaient menés à la conclusion que les phénomènes de réactivité exagérée ayant pour effet une accélération de la réaction à la réinfection, apparaissant avec un caractère inflammatoire aigu et souvent accompagnés de nécrose et d'escarre, tout en étant une modalité presque constante de la réponse de l'organisme tuberculeux à la réinfection, n'étaient cependant pas les facteurs déterminants de l'immunité, c'est-à-dire de la résistance de l'organisme vis-à-vis de l'envahissement par le virus tuberculeux. Qu'ils fassent défaut (comme nous l'avons constaté chez l'animal vacciné par le B. C. G., et tardivement réinfecté par un bacille virulent), faits qui corroboraient des constatations analogues (absence de réaction à la tuberculine, malgré l'immunité) de Calmette, Baldwin et Gardner, Willis, et récemment de Duprez, ou bien seulement atténués par différents facteurs comme nous l'avons montré, ainsi que Boquet; ou au contraire qu'ils se manifestassent dans leur plein épanouissement, exagérés même par différents artifices (Boquet et nous-mêmes), le résultat est le même : l'organisme tuberculeux manifeste une incontestable résistance à la réinfection.

Il nous faut donc admettre que ce ne sont pas les phénomènes de cet ordre qui représentent le mécanisme de la résistance, mais que fort probablement celle-ci est le fait d'une tolérance (insensibilité) progressive des cellules de l'organisme vis-à-vis de l'action toxique des bacilles, de la faculté de détruire et en tous les cas d'empêcher la multiplication des bacilles, ainsi que de la tendance très marquée de les fixer sur place, tous phénomènes grâce auxquels leur aptitude à déterminer des lésions est réduite, et le progrès de l'infection dans l'organisme retardé, sinon arrêté.

Dans les recherches exposées dans ces deux mémoires, nous nous sommes contentés de suivre l'évolution macroscopique des réactions de réinfection; aussi avons-nous cru qu'il serait intéressant de compléter nos observations par l'étude histologique de ces réactions.

L'étude comparative de la structure des lésions de primo et de réinfection a fait déjà l'objet d'assez nombreux travaux.

Sans exposer en détail ces travaux, nous ne ferons état que des différents mémoires et articles de Pagel, basés autant sur ses recherches personnelles que sur l'exposé et l'analyse des autres

auteurs, ainsi que des travaux, comme les plus récentes en date, de R. Laporte.

Pagel admet que la réaction de l'organisme à la pénétration du bacille de Koch se produit en deux phases : la première, réaction inflammatoire banale, commune à toutes les infections et lésions cellulaires, avec participation des cellules fixes et migratoires (leucocytes) ; la seconde qui est considérée comme spécifique, quoique pas exclusivement propre à la tuberculose, caractérisée par la participation de cellules épithélioïdes et formation de cellules géantes.

Pour certains auteurs (Lewandowksi), cette réaction inflammatoire banale, exsudative, est le propre de la réponse de l'organisme neuf (normergique), tandis que la réaction spécifique serait propre à l'organisme allergique. Pour d'autres auteurs (A. Krause), au contraire, la réaction exsudative et surtout la prédominance et l'intensité de celle-ci seraient le propre de l'état allergique.

Pagel considère qu'on ne peut pas parler d'une structure histologique propre à la réaction allergique ou de réinfection, mais qu'il n'en est pas moins vrai que dans certaines conditions la réinfection se traduit par une prédominance marquée et par une accélération tantôt de l'une, tantôt de l'autre, tantôt enfin des deux phases de la réaction.

Toutefois, il ne faut pas croire que la réaction allergique serait simplement une répétition avec ou sans intensification de la réaction de l'animal normal; à ce point de vue, Pagel admet trois éléments nouveaux qui lui sont caractéristiques :

En premier lieu, en ce qui concerne la topographie de la réaction primaire leucocytaire qui, chez l'animal neuf, a dès le début la disposition d'un abcès, tandis que dans le tissu allergique il se produit une infiltration diffuse dans le genre d'un phlegmon avec seulement par endroits l'ébauche de quelques condensations tendant vers la formation d'abcès.

En second lieu, il y aurait une différence non seulement quantitative, dans le sens de la précocité et de l'intensité dans la production de la nécrose et de l'escarre, mais aussi qualitative, quant au mécanisme de production de ce phénomène. En effet, tandis que chez l'animal neuf l'ulcération est le résultat de la lente destruction des tissus par l'extension de l'abcès et d'une infiltration d'histiocytes, chez l'animal allergique elle est le résultat direct de la nécrose immédiate des tissus.

Enfin chez l'animal allergique on assiste constamment à une

rapide diminution et disparition des bacilles jusqu'à ne plus retrouver que de très rares éléments, tandis que dans les tissus neufs ils persistent pendant des semaines et même augmentant de nombre, pendant quelque temps au moins.

Ce qui caractérise encore la réaction de réinfection, c'est la mobilisation plus rapide des éléments fixes, et en conséquence la formation précoce de tubercules, qui chez l'animal neuf est retardée par la persistance de l'abcès initial.

Dans le même ordre de faits, Lewandowsky a pu déterminer des réactions à morphologie nettement différente selon qu'il s'agissait de primo ou de réinfection. Dans le premier cas, l'inoculation intradermique donnait lieu à des infiltrations leucocytaires lâches de la peau, à nombreux bacilles; dans le second, il s'agissait de tubercules paucibacillaires à structure spécifique nettement délimités des tissus environnants.

Korteweg et Löffler ont constaté la même différence. Ces auteurs insistent sur l'apparition chez l'animal réinfecté d'une importante bordure se colorant en rouge au van Gieson, donc de nature collagène, entourant les tubercules paucibacillaires.

Pour Laporte, les lésions cutanées tuberculeuses de primo-infection sont caractérisés d'abord par une réaction diffuse et fugace; puis un abcès intradermique se constitue, aboutissant à l'ulcération. Cet abcès est entouré par le granulome qui est compact et très développé dans les couches lâches du derme, tandis qu'au niveau du derme fibreux, l'infection n'est plus compacte, étant dissociée par les travées fibreuses. L'accroissement de la lésion s'effectue par fonte caséo-purulente centrifuge et par extension périphérique du tissu de granulation. Celui-ci est le siège d'altérations cellulaires intenses, il est envahi par les polynucléaires et la structure folliculaire ne devient nette qu'aux stades tardifs accompagnant le ralentissement du processus extensif. Les bacilles tuberculeux sont toujours très abondants dans ces lésions.

L'évolution des lésions de surinfection est comparable à celle des lésions primaires décrites plus haut. Cependant, à côté des caractères communs, on en rencontre d'autres qui sont propres aux lésions de surinfection. Ainsi très tôt, vers le 5^{e} jour, il se produit dans la zone centrale de la réaction dermique, une lyse intense des coulées de polynucléaires, avec dégénérescence fibrinoïde du collagène interposé. Pendant les premiers jours, le développement de l'abcès central et du granulome s'opère plus vite et l'ulcération apparaît plus tôt; dans la suite cependant la crois-

sance de la lésion est plus rapide chez les témoins. Tandis que pendant toute cette période, chez ceux-ci, le tissu de granulation offre une structure anarchique, chez le surinfecté, au contraire, la structure folliculaire apparaît beaucoup plus nette dans l'ensemble, et cela dès les premiers jours; les cellules géantes sont plus nombreuses. En même temps, la profondeur des altérations atteignant les cellules épithélioïdes, l'intensité et le caractère massif de l'infiltration par les polynucléaires sont de beaucoup moindres dans les nodules de surinfection, et ces altérations se cantonnent dans la zone qui entoure l'ulcération.

Ainsi, constitué plus vite, le granulome de surinfection évolue par contre beaucoup plus lentement que le granulome de primo-infection, et bientôt, surtout dans les lésions de surinfection produites par des petites doses de bacilles en suspension très fine, chez des animaux fortement immuns, apparaît une fibrose de dissociation à marche centripète partant de la périphérie de la lésion. Il s'installe, après disparition progressive et complète des polynucléaires, puis de cellules lymphoïdes, une sclérose progressive partant de la périphérie des amas épithélioïdes qui sont dissociés par des fibrilles collagènes, processus qui tend vers une véritable cirrhose monocellulaire. Les cellules épithélioïdes ainsi séparées s'aplatissent et rappellent alors les fibroblastes normaux.

Enfin, tandis que dans la lésion de primo-infection on assiste comme il a été dit plus haut à une multiplication des bacilles, dans la lésion de réinfection, au contraire, il se produit très précocement une raréfaction intense et progressive des bacilles.

Des recherches personnelles sur l'étude expérimentale de la granulie nous avaient aussi permis de constater que, à tous les facteurs auxquels pouvait être attribuée un rôle déterminant dans la favorisation de la réaction folliculaire, c'était l'état d'allergie, le degré d'immunité de l'organisme, qui nous semblait être le plus important, soit que cette immunité fût obtenue par une vaccination ou une primo-infection préalable, soit qu'elle fût le fait de l'immunisation de l'organisme au cours de l'évolution de l'infection même, sous forme de réaction folliculaire tardive secondaire.

Envisageant la question sous un autre point, Doubrow et Froment, dans leur travail sur le rôle des facteurs locaux dans l'évolution de la tuberculose et particulièrement sur le comportement et l'importance de substances fondamentales et conjonctives, pensent que toute la différence de structure des différentes lésions tuberculeuses tient au substratum conjonctif préexistant et sur-

tout à l'importance de l'atmosphère conjonctive collagène qu'elles trouvent à leur disposition. En effet, d'après leurs observations, dans les lésions exsudatives initiales de date récente on constate l'existence d'un processus caractérisé par un réseau fibrineux coloré en rouge pourpre par la méthode de Mallory-Masson, réseau abondant s'étendant le plus souvent en masse continue, plus ou moins dense et diffuse, pauvre en éléments cellulaires. On remarque déjà que, par places et surtout à la périphérie, apparaît, aux dépens de la fibrine, un fin réseau collagène coloré en bleu.

Dans la région d'union de ces deux zones de fibrine et de collagène, la substance fondamentale prend une teinte violacée et un fort grossissement y montre un mélange de filaments rouges et bleus, étroitement intriqués. On a véritablement l'impression de saisir sur le vif, en bien des points, le métamorphisme collagène de l'exsudat fibrineux initial. Ces pelotons de collagène se forment avant l'apparition de tout élément cellulaire.

Les lésions d'un âge plus avancé permettent de constater la double évolution suivie par le foyer broncho-pneumonique tuberculeux : d'une part, la caséification de l'exsudat fibrineux, qui perd sa belle teinte rouge; d'autre part, le métamorphisme collagène qui s'observe surtout à la périphérie de la lésion, celle-ci ayant tendance à s'encercler d'une coque fibreuse plus ou moins épaisse. C'est au sein de cette nappe collagène que l'on voit apparaître les cellules géantes de Langhans. Celles-ci ne se trouvent ni dans les plages fibrineuses, ni dans les zones caséeuses, elles apparaissent au sein d'une trame conjonctive néoformée et notamment au niveau du manchon collagène péricaséeux.

Il ressort donc, d'après ces auteurs, que le follicule giganto-cellulaire ne peut se former en dehors du collagène ou de toute autre substance de qualité mécanique égale ; aussi, pour les lésions pulmonaires, la précocité d'apparition de formations folliculaires giganto-cellulaires chez l'animal allergique serait-elle due, d'après Rist, Doubrow et Froment, précisément à ce que, du fait de l'allergie, le réseau de fibrine exsudative d'une lésion tuberculeuse se transformerait directement et rapidement en fibrine. Il s'agirait d'un cas de métamorphisme collagène, selon Nageotte, effectué sans aucune participation cellulaire. Par contre l'état d'anergie tuberculeuse se manifesterait par la fonte caséeuse de la fibrine, fonte plus ou moins aiguë et rapide.

Si, malgré l'étude déjà si complète de la question que nous devons aux recherches que nous venons de citer, nous avons

quand même pensé qu'il serait intéressant de présenter le résultat de nos expériences, c'est que celles-ci ont été poursuivies selon un plan quelque peu différent. En effet, notre but a été d'étudier, non seulement la différence de réaction entre l'animal normal et l'animal réinfecté, arrivé à un moment donné à un certain degré, déjà très manifeste d'allergie, mais au contraire et surtout de suivre chez ce dernier, au fur et à mesure que l'allergie s'établissait, l'apparition des caractères propres à la réaction allergique ; en même temps, nous avons incorporé à nos recherches l'étude des réactions des animaux vaccinés par le B. C. G., ce qui nous a permis d'étudier la réaction à la réinfection tardive.

Les résultats que nous avons obtenus en nous tenant à un pareil plan de recherches, lors de notre étude sur les modifications macroscopiques de la réaction à la réinfection, nous ont déterminé à adopter la même disposition de nos expériences destinée à l'étude microscopique du phénomène.

Nos expériences ont porté sur des cobayes inoculés dans le derme avec 0,01 de mmgr. de bacilles virulents vivants, de la souche bovine Vallée, émulsionnés dans 0,1 cc. d'eau physiologique. Les réinfections ont été pratiquées avec la même dose dans la peau du flanc, à différents intervalles, c'est-à-dire après 12, 20, 45 et 74 jours. Dans deux autres séries d'expériences, la disposition a été quelque peu différente; en effet, dans l'une, il s'agissait de cobayes vaccinés avec 1 ctgr. de B. C. G. en injection sous la peau de la cuisse, et réinfectés six mois plus tard avec la même dose que les précédents, c'est-à-dire 0,01 de mmgr. de bacilles de la souche bovine Vallée; enfin, dans une autre série, des cobayes infectés avec 0,02 mmgr. de bacilles de la souche bovine Vallée avaient été réinfectés à plusieurs reprises, à savoir après 2, 4 et 8 jours, avec une dose égale de bacilles.

Voici maintenant le résultat de nos expériences :

Première série. — Primo-infection par inoculation intradermique de 0,01 mmgr. de bacilles virulents.

Apparition d'un nodule cutané à peine perceptible à la vue et à la palpation entre le 4e chez les uns, jusqu'au 10e jour chez d'autres. En moyenne, vers le 8e jour, le nodule a la grosseur d'un grain de millet; vers le 14e jour, d'un grain de blé. A partir de ce moment, le nodule progresse rapidement de volume et après ulcération le chancre typique se constitue.

L'étude microscopique des biopsies pratiquées 2, 4, 6, 10 jours après l'apparition du nodule, et respectivement 6, 8, 10, 14 et 20 jours après l'inoculation, permet de reconstituer de la manière suivante l'évolution du processus (fig. 1, dans le texte).

Les premiers jours qui suivent l'apparition du nodule, on trouve toute une série d'espaces interfibrillaires dilatés et remplis de liquide interstitiel assez riche en fibrine, mais surtout en leucocytes neutrophiles et en polyblastes lymphoïdes ou histioïdes; l'ordre d'énumération est aussi l'ordre de fréquence croissante. Bon nombre d'éléments à noyau rond ou ovalaire ressemblent de très près aux noyaux des cellules conjonctives fixes. Aucun arrangement ne préside à la disposition de ces éléments.

La destruction uni-cellulaire est assez fréquente, mettant en liberté

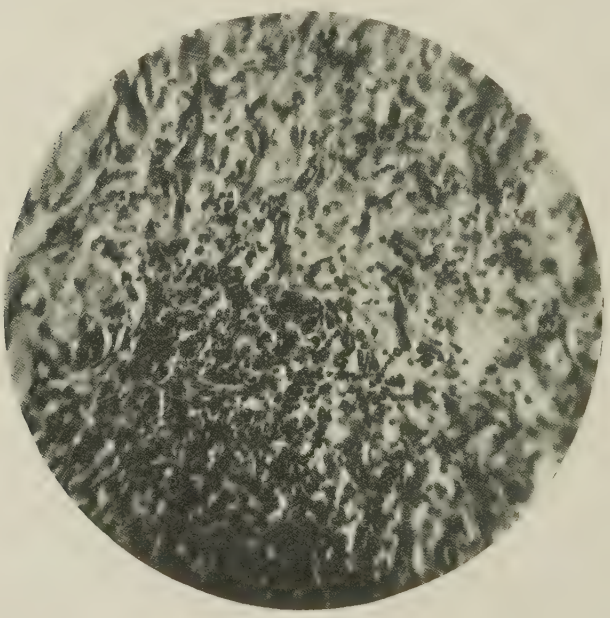


Fig. 1. — Cobaye 324-1. Témoin ; 20 jours après la première et seule inoculation, et 10 jours après l'apparition du nodule (explication dans le texte).

des petites boules pycnotiques; cependant on ne peut pas encore parler de nécrose massive du nodule.

Vers la périphérie de celui-ci, les espaces interfibrillaires sont moins dilatés, leur infiltration cellulaire (histiocytes, lymphocytes, neutrophiles) et œdémateuse est moins intense, d'autres espaces sont libres. Il n'y a pas d'arrêt brusque, mais une décroissance rapide de la lésion vers ses bords.

Plus loin encore, à distance du nodule (fig. 2, dans le texte), on trouve des cellules conjonctives fixes et des cellules histiocytaires périadventitielles mobilisées, en absence de toute infiltration inflammatoire, donc en l'absence de l'œdème et des leucocytes.

Tout autour du nodule, l'ectasie veineuse est plus marquée que l'ectasie artérielle. L'épithélium cutané est d'aspect normal.

Excepté quelques fibres collagènes situées en plein nodule, atteintes de nécrose avec aspect homogène acidophile, les fibres collagènes sont simplement épaissies et plus pâles, lorsqu'elles sont en contact avec l'infiltration inflammatoire.

Ultérieurement, la charpente fibrillaire cède en plusieurs points, tandis que les leucocytes neutrophiles semblent émigrer vers le centre du nodule, où ils s'accumulent en nombre de plus en plus grand, et

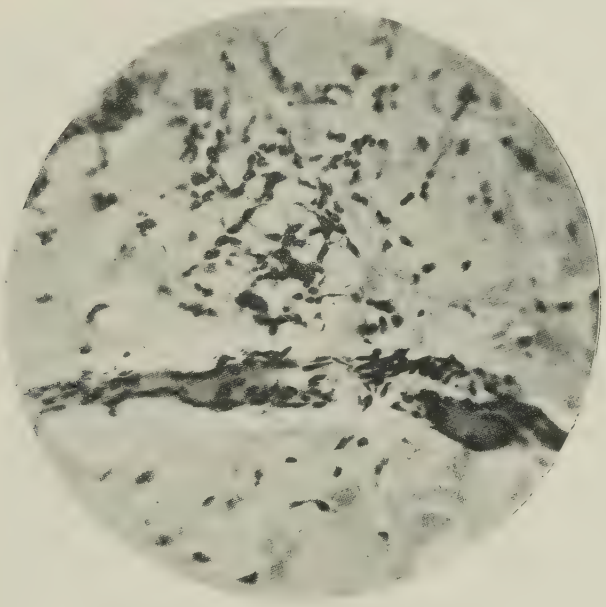


Fig. 2. — Cobaye 324/1. Le même que dans la figure précédente. Région située à distance du nodule.

finalement, vers le 10e jour, on ne rencontre plus que très rarement un leucocyte bien coloré, la plupart ayant subi la pycnose avec caryorhexis et ensuite caryolyse. C'est l'abcès central pleinement formé.

Au contraire, les éléments mononucléés, polyblastes histiocytaires ou lymphocytaires, cellules fixes mobilisées et de rares lymphocytes s'accumulent en amas de plus en plus denses à la périphérie de l'abcès. De nouveaux neutrophiles y arrivent le long de coulées cellulaires, dont les parties avoisinant le centre subiront la nécrose, au fur et à mesure que du 10e au 20e jour l'abcès central augmente de dimensions.

L'accumulation des éléments mononucléés autour de l'abcès représente une espèce de capsule cellulaire, entourée à distance par des vaisseaux extasiés, ayant envoyé des bourgeons capillaires de nouvelle formation.

Lorsqu'elle est pleinement développée, la lésion consiste en un abcès enkysté, du derme fibreux, entouré par une barrière de cellules mobiles ou mobilisées sous tension dans les espaces interfibrillaires dilatés et bourrés au maximum. Cette barrière périnécrotique est entamée d'une part, par la nécrose centrale s'étendant de proche en proche, d'autre part elle subit les remaniements que lui imposent les capillaires néoformés venus du tissu sain avoisinant. Grâce à ces derniers s'élabore un tissu de granulation à faible tendance cicatricielle ou fibropare. Au contraire, l'infiltration progresse et envahit, d'abord le derme lâche et ensuite le peaucier. La marche de l'infiltration se ralentit lorsqu'elle touche au muscle, mais à ce moment elle a déjà entamé l'épiderme et prépare l'ulcération. Sur certaines parties de son contour, l'abcès paraît être parfaitement délimité et arrêté.

Le tissu de granulation ne présente aucun arrangement folliculaire bien défini; c'est une nappe de cellules histiocytaires claires, ou lymphoïdes foncées; les cellules géantes sont rares, encore plus qu'il ne semble à première vue, lorsqu'on serait tenté de prendre pour telles les images tangentielles de syncytia produits par la lipogranulomatose, lorsque le tissu cellulo-adipeux est envahi à son tour.

Les bacilles, très nombreux déjà les premiers jours, augmentent continuellement pendant les dix jours suivants; on les trouve d'abord autour des neutrophiles fragmentés, ensuite à l'intérieur des polyblastes histiocytaires clairs (cellules épithélioïdes) ou des cellules conjonctives fixes mobilisées.

Deuxième série. — Cobayes infectés avec 0,01 cc. de mmgr. de bacilles virulents, réinfectés après 13 jours avec la même dose.

L'apparition du nodule n'est pas beaucoup plus précoce que chez les témoins, entre le 3e et le 6e jour; ses dimensions environ les mêmes, et augmentant jusque vers le 12e jour, moment à partir duquel il commence à rétrocéder pour arriver à avoir, vers le 28e jour environ, les mêmes dimensions qu'au début.

Les biopsies ont été pratiquées les 2e, 3e, 5e, 7e, 9e, 11e, 12e et 21e jours après l'apparition du nodule, soit 8, 6, 7, 10, 12, 15, 19 et 28 jours après la réinfection (fig. 3, planche).

Au point de vue histologique déjà, des différences très nettes distinguent l'évolution de la lésion de réinfection de celle de primo-infection. Ainsi, la structure folliculaire, vaguement indiquée dans la série précédente, se manifeste ici dès le 8e jour : on y trouve des follicules, des cellules épithélioïdes donnant un certain cachet de spécificité même en l'absence de cellules géantes.

En ce qui concerne la réaction des cellules fixes mobilisées, on constate que, tandis que dans la primo-infection les fibrocytes mobilisés restent à distance, par contre dans la réinfection ils pénètrent et dissocient les nids pluricellulaires de polyblastes histiocytaires ou lymphocytaires. En ces endroits, les polyblastes à noyau clair ou foncé arrivent à prendre, par pression réciproque, l'aspect de cellules épithélioïdes, parsemées de noyaux lymphocytaires et de fibres précollagènes d'abord, collagènes, ensuite.

A cette activité renforcée des fibrocytes au niveau du nodule, corres-

pond une plus forte hypertrophie avec mobilisation de ces éléments à distance, dans le derme fibreux ou lâche, mobilisation qui se fait en partie grâce à la prolifération par division directe, et en partie, grâce au glissement des fibrocytes le long des fibres conjonctives. Ce déplacement se fait par cytolysthèsis, comme dans les cultures de tissus *in vitro*, sans modification de contour. Les cellules gardent toujours leur silhouette fusiforme, comme les fibroblastes de Carrel. La seule

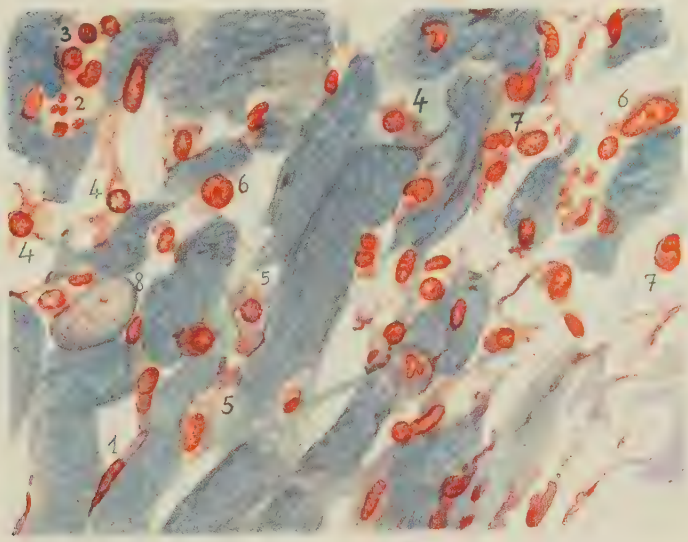


Fig. 3. — Cobaye 3477/1 (2e série). Réinfection précoce : 13 jours après la première infection; l'animal a été sacrifié 6 jours après la réinfection et 3 jours après l'apparition du nodule. Lésions du derme profond, près de l'hypoderme ; *1*, fibrocyte normal; *2*, leucocytes à noyau polymorphe; *3*, groupe de lymphocytes et de polyblastes lymphoïdes ; *4*, fibrocytes en voie de mobilisation ; *5*, macrophages ; *6-7*, histiocytes plus ou moins hyperplasiés ; *8*, grosse boule hyaline, probablement représentant un faisceau de fibres conjonctives très altérées.

différence entre le fibroblaste normal et celui déjà mobilisé réside dans les modifications tinctoriales et structurales du cytoplasme, qui est basophile ou amphophile chez le fibroblaste mobilisé, et de structure spongieuse plus ou moins apparente, modification signalée chez les fibrocytes d'inflammation par Dominici.

La réaction des histiocytes périadventitiels paraît se produire sur une grande étendue, car on en rencontre à distance dans les inters-

tices du tissu lâche et de l'hypoderme. Une partie, tout au moins, de ces histiocytes se transforme en fibrocytes.

L'abcès se délimite plus rapidement (fig. 4, dans le texte), grâce aux neutrophiles rassemblés vite au centre du nodule, ainsi qu'à une fonte accélérée de la trame fibreuse.

La lésion épithéliale, débutant dans le corps de Malpighi, évolue selon le schéma connu : nécrose, escarre, élimination, cicatrisation,

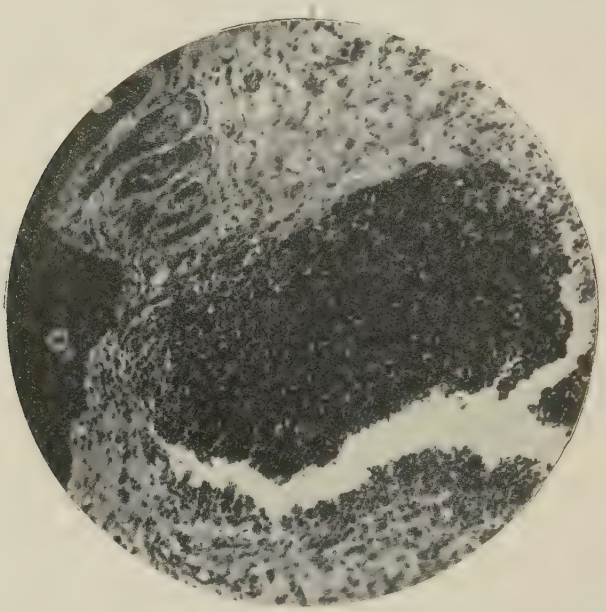


Fig. 4. — Cobaye 3469/3B. Réinfection après intervalle moyen : 25 jours après la première infection; 12 jours après la réinfection et 9 jours après l'apparition du nodule ; abcès délimité plus rapidement et plus nettement que chez le témoin.

dans le derme lâche, dès le 7e jour, et s'étale à la surface du peaucier qui forme barrière.

La capsule cellulaire est plus mince, mais plus nettement délimitée que chez les témoins. Lorsque la suppuration s'installe, de nouveaux neutrophiles arrivent le long des coulées cellulaires interfibrillaires (fig. 5, planche); ces éléments ainsi que les plasmocytes, rendent le tissu de granulation périphérique plus polymorphe et plus actif.

Même activité exagérée dans le tissu cellulo-adipeux et dans les interstices musculaires.

Les bacilles sont nettement moins nombreux que chez les témoins; sur bon nombre de coupes, on ne trouve que de très rares granulations acido-résistantes, éparses parmi les cellules de l'abcès ou bien à l'intérieur des histiocytes ou des cellules fixes mobilisées.

TROISIÈME SÉRIE. — Cobayes infectés avec 0,01 de mmgr. de bacilles virulents, réinfectés avec la même dose après 20 jours.

Après 24 heures, on constate une assez grosse tuméfaction, dépassant en dimensions une lentille; 24 heures plus tard, cette tuméfaction est presque disparue; il ne persiste qu'un minime nodule qui progressera à peine, pendant quelques jours encore, pour commencer ensuite une lente régression.

Les biopsies ont été pratiquées le jour même, 2, 3, 4, 6, 8, 10 et

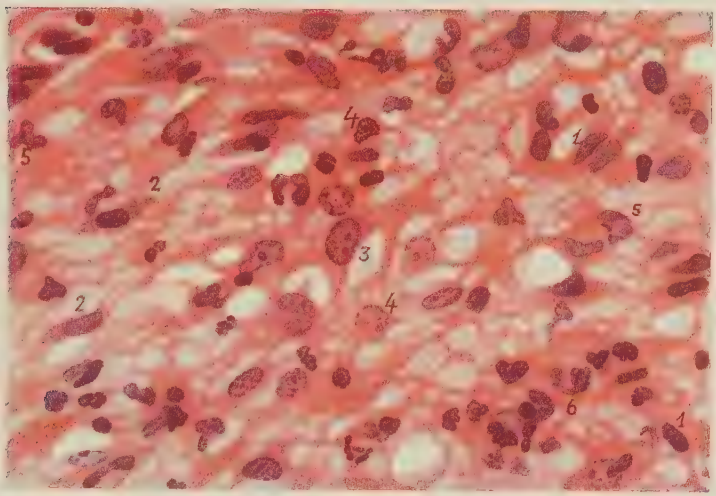


FIG. 5. — Cobaye 3469/3B. Le même que dans la figure 4. Derme cellulaire œdématié, au voisinage du nodule : *1*, fibrocytes normaux ; *2*, fibrocytes à cytoplasme amphophile; *3-5*, dérivés histiocytaires; *4*, noyaux en voie de lyse; *6*, groupe de leucocytes et d'histiocytes avec un lymphocyte.

15 jours après l'apparition du nodule, soit 24 heures, 3, 4, 5, 7, 9, 11 et 16 jours après la réinfection.

Comme lésions histologiques, la participation des cellules fixes est encore plus intense que dans la série précédente, les figures de déplacement des fibroblastes, libérés de leurs fibres sont très variées et très faciles à étudier en tant que réaction cellulaire.

La configuration générale du nodule et de l'abcès, des rayons vaguement triangulaires qui les prolongent, sont en lignes générales les mêmes que ceux mentionnés pour la série précédente. Seul le rythme diffère, étant plus accéléré; il en est de même pour la lésion épithéliale.

Les bacilles sont encore moins nombreux.

Quatrième série. — Cobayes infectés avec 0,01 de mmgr. de bacilles virulents, réinfectés après 45 jours.

Même réaction immédiate que dans la série précédente avec résolution tout aussi rapide, mais avec, en plus, une nécrose du derme perceptible à l'œil nu seulement vers la deuxième semaine.

Quant à son histologie (fig. 6, dans le texte; 7, planche), ce qui frappe d'abord, c'est la précocité de la nécrose, c'est un phénomène de Koch microscopique, limité au derme, évoluant sur son propre

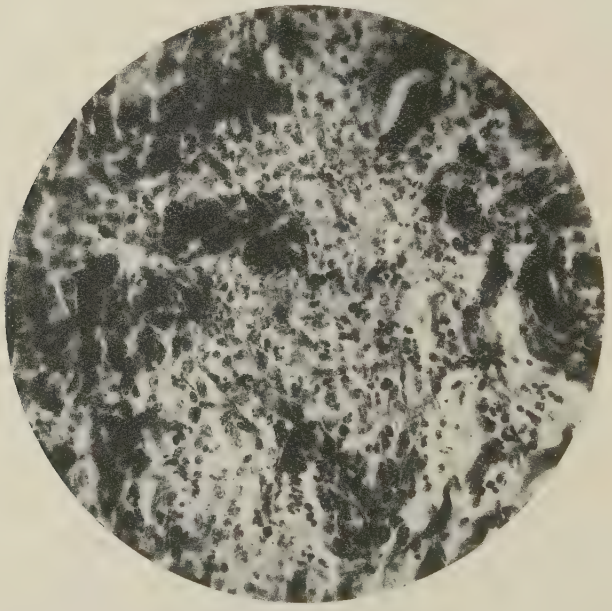


Fig. 6. — Cobaye 3459/1. Réinfection tardive (4e série) : 47 jours après la première infection, 45 jours après la réinfection et 3 jours après l'apparition du nodule. Afflux accéléré de fibrocytes et d'histiocytes parmi les leucocytes dissociant le derme fibreux très œdématié.

compte et avec un rythme accéléré. Cette nécrose dermique, combinée avec la nécrose épithéliale, laisse persister l'ulcération jusqu'au 21e jour.

Pour le reste, le nodule mi-nécrotique, mi-cellulaire, ne diffère des précédents que par son évolution accélérée, car sa structure reproduit de tous points celles des nodules « murs » déjà décrits : même centre où l'afflux des neutrophiles pycnotiques et fragmentés masque tout autre détail tissulaire; même coque épaisse de cellules à un seul noyau rond, ovalaire ou tordu : ce sont des polyblastes histioïdes avec ou sans aspect épithélioïde, en plus quelques lymphocytes et des fibroblastes à la périphérie de rares neutrophiles, sans cellules géantes. Ces

dernières font leur apparition le 9e jour et deviennent plus abondantes par la suite. L'arrangement folliculaire se dessine après 14 jours et se constitue pleinement au bout de trois semaines.

Tandis que les nodules s'atrophient, leur structure change, car l'infiltration devient moins dense, moins compacte; tout le nodule est représenté à cette période, par l'infiltration d'une série d'espaces parallèles ou entrecroisés, sous des angles aigus. A un faible grossissement, les coulées cellulaires fortement colorées tranchent sur le fond plus pâle du derme fibreux. Ces coulées cellulaires offrent un aspect

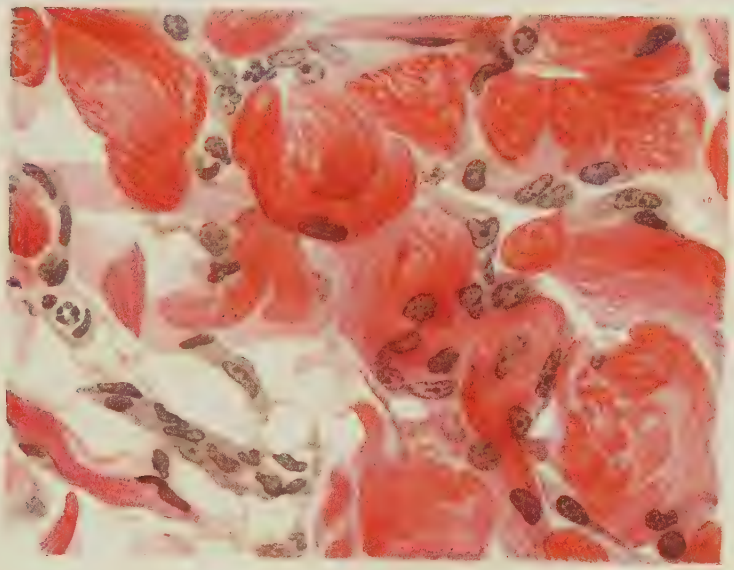


Fig. 7. — Cobaye 3459/1. Le même que dans la figure 6 : mobilisation des fibrocytes et des histiocytes à distance.

vaguement plexiforme. L'œdème inflammatoire est nul dans de pareils nodules plexiformes en voie d'atrophie. Leur constitution correspond à leur évolution : on y trouve surtout des formes histioïdes ou épithélioïdes, avec de nombreux fibroblastes; les plasmocytes et les lymphocytes sont par endroits plus fréquents que les neutrophiles. Les cellules sont plus espacées, leurs contours plus faciles à suivre, la réaction à distance plus réduite. L'infiltration du tissu lâche sous-cutané se fait rapidement, mais n'atteint pas le degré d'intensité observé dans les séries antérieures, surtout la deuxième.

Sur les coupes colorées par la méthode de Ziehl, on a beaucoup de peine à trouver de temps en temps un bacille ou une granulation acido-résistante, la plupart extra-cellulaires.

Cinquième série. — Cobayes réinfectés après 74 jours. Le lendemain de la réinfection, on constate déjà une tendance évidente à la nécrose du derme et de l'épiderme qui s'accomplit les jours suivants et est suivie d'élimination de l'escarre.

Pour le reste, le tableau histologique ne diffère pas beaucoup de celui des séries précédentes. C'est la même inflammation d'allure sous-aiguë avec leucocytes neutrophiles disséminés parmi les fibrocytes et les histiocytes mobilisés, ces derniers prenant parfois l'aspect folliculaire avec cellules géantes de type myéloplaxe ou intermédiaire, contenant parfois des bacilles de Koch.

Les deux séries d'expériences suivantes sont quelque peu différentes.

Sixième série. — Il s'agit cette fois-ci de cobayes infectés avec une dose double de bacilles virulents; 0,02 mmgr., et réinfectés à plusieurs reprises et avec la même dose après 2, 4 et 8 jours, les biopsies étant pratiquées 6, 7, 9, 25 et 51 jours après l'apparition des nodules de réinfection.

L'apparition de ces nodules est nettement accélérée. En dehors des caractères histologiques communs aux réactions de réinfection que nous venons de décrire, il est à signaler que l'influence des réinfections répétées se manifeste par une plus large participation des leucocytes neutrophiles et par une plus grande dissémination des foyers nécrotiques, la présence de petites suffusions hémorragiques, une hyperhémie et une tendance plus marquée à la nécrose.

Après 51 jours, il y a une forte tendance fibropare autour des multiples petites nodules nécrotiques situés au-dessus ou au-dessous du peaucier. Quelques cellules géantes de type Langhans se rencontrent à la périphérie de ces formations.

Septième série. — Elle comprend des cobayes vaccinés six mois auparavant avec 1 ctgr. de B. C. G., réinfectés ensuite avec 0,01 de mmgr. de bacilles virulents.

Les nodules de réinfection apparaissent précocement, après deux jours, sans atteindre les grandes dimensions que nous avons signalées chez les cobayes des troisième et quatrième séries.

Les biopsies ont été pratiquées à 24 heures, 3, 9, 14 et 21 jours après l'apparition du nodule, soit 3, 5, 11, 16 et 23 jours après la réinfection.

Leur histologie montre une réaction très faible, avec formation d'un exsudat fibrinoïde pauvre en neutrophiles; ces éléments augmentent par la suite, et le petit abcès est constitué seulement après deux semaines. Il est frappant d'y constater l'abondance de cellules Langhans typiques, et des arrangements folliculaires.

Les bacilles y sont très rares, beaucoup d'entre eux fragmentés ou représentés seulement par des granulations acido-résistantes.

⁂

Pour ce qui est de l'interprétation purement histologique des réactions propres à la réinfection, nos observations nous suggèrent les réflexions suivantes :

Comme nous l'avons déjà dit, pour les lésions pulmonaires Rist, Doubrow et Froment pensent que, par l'effet de l'allergie, le réseau de fibrine exsudative de la lésion tuberculeuse se transforme directement et rapidement en collagène, et créerait de ce fait le stroma fibrillaire indispensable à la formation des éléments folliculaires. Par contre, l'état d'anergie se manifesterait par la fonte caséeuse de la fibrine, fonte plus ou moins aiguë et rapide. Il s'agirait donc surtout, en premier lieu, d'une différence de comportement des substances fondamentales, plus que d'une différence dans la réponse des éléments cellulaires.

Cette conception est extrêmement suggestive et séduisante, mais la question peut se poser s'il est loisible de sérier ainsi sur un poumon d'autopsie les différentes étapes et les différentes qualités de l'immunité, afin de leur mettre en parallèle l'évolution, soit caséeuse, soit fibro-conjonctive du réseau fibrineux apparaissant au niveau d'une lésion tuberculeuse. Même en admettant une pareille transformation directe de la fibrine en collagène, ce parallélisme, et par conséquent le sens de cette transformation, restent à démontrer sur un matériel d'étude plus favorable, permettant de démêler avec toute la précision voulue ces différentes étapes.

Il reste également à démontrer que l'organisation fibreuse d'un foyer caséeux se fait selon des types histologiques différents dans la primo- et dans la surinfection, et enfin que l'alternation hyaline du collagène traduit une allergie de deuxième degré, en opposition avec le métamorphisme collagène de la fibrine représentant un premier degré d'allergie.

Il ne faut pas perdre de vue que les complexités qui découlent de l'âge différent des lésions pulmonaires s'exagèrent par leur complexité pathogénique, puisque déterminées par des facteurs infectieux, toxiques, vasculaires, nutritifs et autres.

On ne saurait nier cependant que la réaction du stroma fibrillaire se fait plus rapidement et plus intensément chez les animaux réinoculés que chez les primo-infectés.

Mais, d'après la description que nous venons d'en donner, il nous paraît que cette différence relève essentiellement d'une réponse cellulaire accélérée et simplifiée.

En effet, en faisant varier la date de la réinfection, nous avons vu que les intervalles plus longs s'accompagnent d'une moindre réaction inflammatoire et d'une mobilisation plus rapide des fibrocytes et des histiocytes.

Moins d'inflammation, c'est-à-dire d'hyperhémie, et moins d'exsudat interstitiel, séreux, fibrineux ou leucocytaire. Mobilisation plus rapide, donc prédominance des formes tissulaires sur les leucocytes à noyau rond ou polymorphe. Laporte a insisté particulièrement sur le rôle prédominant joué par la réaction des mononucléés dans la réinfection, ou la fibrose est d'ailleurs plus précoce et plus intense. En d'autres termes, l'abondance des fibres collagènes de nouvelle formation va de pair avec l'abondance des cellules conjonctives (fibrocytes et histiocytes) et non avec celle de la fibrine.

D'accord avec Laporte, nous avons également constaté que, dans la réinfection, l'apport vasculaire cède le pas, comme importance, à l'apport tissulaire; ce sont surtout les cellules conjonctives, les histiocytes et les lipocytes qui font les frais de la lésion.

Nous voulons souligner davantage le rôle des fibrocytes, dont la forme vaguement effilée ou ovoïde est moins caractéristique que leurs noyaux clairs et régulièrement arrondis, à l'encontre des histiocytes et des dérivés de ces derniers. Les fibrocytes pénètrent de bonne heure dans le foyer inflammatoire et tendent à l'organiser. Les méthodes spéciales de coloration, comme le trichrome de Masson, et le Bielschowsky-Marsch, montrent la présence de fibrilles fines de réticuline, apparaissant parmi les polyblastes histiocytaires, et démontrant la transformation conjonctive de ces éléments. La fibrose est donc redevable non seulement aux fibroblastes, mais également aux histiocytes qui peuvent se transformer d'abord en cellules réticulaires et ensuite en fibrocytes. Nous ne saurions insister davantage sur les relations si longuement débattues, des histiocytes et des fibrocytes. C'est un des aspects les plus ardus de l'inflammation. L'interprétation qui précède est une anticipation sur un travail plus étendu concernant certains aspects cytologiques de l'inflammation que l'un de nous poursuit depuis un certain temps déjà.

Tout aussi méconnue est l'intervention des lipocytes. A l'occasion de recherches publiées autre part, l'un de nous a pu se convaincre de la transformation des lipocytes, soit en cellules réticulaires « épithélioïdes » et en fibroblastes, avec cicatrice finale, soit en syncytia de taille géante. L'apparition de ces derniers éléments est en fonction seulement de l'irritation des lipocytes,

indépendamment de l'origine et de la nature de l'agent pathogène. C'est une réaction non spécifique du tissu cellulaire sous-cutané, pouvant être déterminée par l'ischémie, l'hémorragie, le froid, les traumatismes, la diathermie, ainsi que par différentes substances toxiques.

La présence dans les nodules sous-cutanés d'éléments « épithélioïdes ou plurinucléés » n'est donc nullement spécifique pour une infection par le bacille de la tuberculose, comme le relève d'ailleurs expressément aussi Laporte.

Si, maintenant, après avoir passé en revue les différentes interprétations quant à la signification cytologique des éléments qui entrent en jeu au cours de la réaction de réinfection, nous passons à l'interprétation de la signification globale de ces réactions, en rapport surtout avec les différents degrés d'allergie correspondant aux moments successifs auxquels nous avons pratiqué la réinfection, nous croyons pouvoir les envisager de la manière suivante.

La réaction à la réinfection se traduit par deux ordres de phénomènes inflammatoires d'évolution et de sens différents. En effet, nous constatons que le caractère de la réaction de réinfection se traduit d'abord, aux stades précoces, par une accélération dans l'apparition du nodule; ensuite cette accélération s'accentuant au fur et à mesure que la réinfection est pratiquée plus tardivement, il s'y ajoute une réaction inflammatoire plus aiguë et plus intense avec gros œdème, de nature transitoire, puisque on la voit disparaître pour être remplacée par le simple nodule de dimensions tout aussi réduites que celui de primo-infection ou celui de réinfection précoce. Enfin à un stade encore plus avancé, cette inflammation précoce et aiguë est accompagnée de nécrose presque immédiate, d'abord microscopique seulement, plus tard macroscopique.

Il y a donc là une série de phénomènes de nature inflammatoire aiguë, consistant en œdème, hyperhémie, leucocytose à polynucléaires, nécrose précoce et rapide qui vont en s'accentuant et en prenant des proportions de plus en plus grandes au fur et à mesure que progresse l'allergie. Leur caractère est cependant jusqu'à un certain point transitoire, et si l'état d'allergie n'est pas encore suffisamment développé pour qu'ils aboutissent à la nécrose, on assiste à leur rétrogradation assez rapide.

D'un autre côté des réactions moins bruyantes, communes à la primo- aussi bien qu'à la réinfection, mais avec un caractère évident de précocité et d'accélération au cours de celle-ci, se déroulent parallèlement aux premiers. Il s'agit de la constitution

de l'abcès à polynucléaires, de l'apparition de la structure folliculaire, avec cellules géantes et enfin de la participation de cellules fixes mobilisées, ainsi que de la présence collagène. Pour ce qui est de cette seconde catégorie de phénomènes, la réaction de réinfection se traduit, il est vrai, par une précocité et une accélération de rythme d'intervention de ces différents éléments; mais en ce qui concerne l'étendue du processus, les dimensions de l'abcès entre autres et l'envahissement des tissus avoisinants, on constate que plus l'allergie est avancée, c'est-à-dire plus la réinfection a lieu tardivement, plus ces phénomènes sont d'importance réduite.

Il y a donc une incontestable divergence entre l'évolution de ces deux ordres de réactions; les premières de plus en plus violentes, intenses et étendues, les secondes au contraire de plus en plus réduites en dimensions et comme durée, le processus entrant de plus en plus précocement dans la phase de réparation.

D'autre part, en ce qui concerne la nature de ces phénomènes, nous voyons que les premiers ont tous les caractères des réactions allergiques ou d'hypersensibilité communes à toute réinjection d'une protéine quelconque à un animal sensibilisé : réaction sérique, phénomène d'Arthus, et même réaction à la tuberculine, cette réaction étant, de l'avis de certains auteurs (Laporte), d'un caractère différent de celle déterminée par la réinfection proprement dite. Nous n'y rencontrons aucun caractère de spécificité, et même pourrions-nous dire aucun caractère de réaction antimicrobienne. C'est là tout simplement la réaction anaphylactique de l'animal tuberculeux à la protéine du bacille, et comme nos recherches antérieures nous l'ont prouvé, et cela d'accord avec la plupart des auteurs qui ont étudié cette question, sans aucun rapport avec le degré, ou plutôt le mécanisme de défense et de résistance de l'organisme. Qu'elle soit plus intense ou plus faible, qu'elle manque même complètement, cette résistance, à conditions par ailleurs égales, reste la même.

Quant aux phénomènes du second ordre, ils présentent tous les caractères des réactions que nous sommes habitués à considérer comme antimicrobiennes et plus particulièrement comme spécifiques de l'inflammation déterminée par le bacille de Koch. Ce qui les distingue de la réaction de primo-infection, ce n'est pas seulement leur précocité, mais surtout le fait qu'au fur et à mesure que l'immunité s'installe, les processus altératifs et destructifs s'atténuent et qu'au contraire les mécanismes de réparation entrent plus précocement en jeu. Tout se passe comme si le

processus de lutte entre le microbe et l'organisme était plus précocement liquidé.

Mais cette issue favorable à quel mécanisme est-elle due ? Parce qu'il est de toute évidence qu'au moment de l'intervention des éléments histiocytaires, le conflit paraît être déjà tranché. Puisque ainsi que nous l'avons déjà dit, la réaction inflammatoire précoce, non spécifique, ne joue pas un rôle important à ce point de vue, force nous est d'admettre l'intervention d'autres facteurs.

A ce point de vue, un fait que nous ne saurions assez relever, c'est le petit nombre de bacilles que l'on rencontre dans la lésion de réinfection. Faut-il admettre que, très précocement, il y a eu destruction de bacilles ? Le problème de la lyse du bacille de Koch dans l'organisme réinfecté est encore à l'étude; la possibilité, la probabilité même d'un pareil processus a été envisagé par certains auteurs. Quoique, *in vitro,* on n'ait pas réussi jusqu'à présent à mettre en évidence dans les humeurs ou les tissus de l'animal tuberculeux des anticorps lytiques suffisamment puissants pour pouvoir admettre leur intervention dans l'organisme, il n'en est pas moins vrai qu'*in vivo* il puisse s'agir de phénomènes dont la reproduction *in vitro* ne soit pas réalisable.

Ce qui est certain, c'est que *in vivo,* nous constatons : d'abord une incapacité de se multiplier des bacilles de réinfection, et en second lieu une diminution de leur nombre. Si la présence d'anticorps ne peut jusqu'à ce jour être tenue pour responsable de ce résultat, au moins n'en avons-nous pas de preuve expérimentale ; tout aussi peu pouvons-nous attribuer ce rôle à la réaction cellulaire inflammatoire.

En effet, pour ce qui est de polynucléaires, non seulement au cours de la réaction de réinfection leur participation est réduite, mais leur pouvoir de digérer les bacilles tuberculeux est notoirement presque nul et c'est généralement les cellules qui sont victimes du combat. Quant aux histiocytes, leur action phagocytaire semble très réduite, en tous les cas les bacilles phagocytés sont extrêmement rares, et à ce point de vue aussi on a l'impression que leur intervention se fait à un moment où les bacilles sont déjà très diminués de nombre.

Il nous reste donc, semble-t-il, à admettre que ce qui caractérise surtout l'organisme allergique, c'est de représenter un terrain impropre au développement et à la multiplication du bacille de Koch. Cette action empêchante est-elle due à la présence d'anticorps qui ne sont pas — comme nous l'avons vu — décelables « *in vitro* », mais n'en exercent pas moins leur action « *in vivo* »,

ou bien est-elle due au fait que le bacille ne peut se développer qu'aux dépens des éléments cellulaires altérés par son action toxique, et celle-ci ne pouvant plus s'exercer sur les éléments immuns, réfractaires et insensibles qu'il rencontre dans l'organisme allergique; ce ne sont qu'hypothèses que nous nous risquons d'avancer.

Le fait que nous croyons cependant devoir considérer comme l'acquisition la plus importante de nos observations, c'est que, ainsi que nous l'avions déduit de nos précédentes recherches, les phénomènes d'hypersensibilité, les processus inflammatoires aigus, qui accompagnent chez l'animal allergique l'immunité ou la résistance à la réinfection, ne représentent pas le mécanisme de défense propre à cet état; ils sont un phénomène simultané, mais pas inhérent à ce processus qui peut avoir lieu même en leur absence.

Il est donc faux d'apprécier le degré d'immunité antituberculeuse d'un organisme d'après l'intensité de ces phénomènes, et tout aussi faux de croire qu'en leur absence, l'immunité ne peut pas exister, ou bien que celle-ci ne se peut acquérir qu'aux risques inhérents et inévitables d'une hypersensibilite toujours menaçante.

Les faits expérimentaux que nous venons de citer, ainsi que la pratique expérimentale et clinique, ont d'ailleurs prouvé que cette immunité peut s'acquérir par des voies sûres, ne mettant pas en danger l'organisme, et que ce n'est plus de ce côté qu'il faut craindre les écueils, dans la recherche des méthodes de plus en plus efficaces de vaccination préventive ou curative de la tuberculose.

BIBLIOGRAPHIE

Boquet (A.) : *C. R. Soc. Biologie,* 1933, t. 112, p. 1168.
Craciun (E.) : *Bull. et Mém. Soc. méd. hosp. Bucarest,* 1935, vol. 17, p. 106.
Doubrow (S.), Froment (R.) : *Ann. Anat. Pathol.,* 1929, p. 325.
Duprez (C.) : *C. R. Soc. Biologie,* 1934, t. 117, pp. 832 et 834.
Korteweg et Löffler : *Frankf. Z. f. Path.,* 1925, vol. 31.
Laporte (R.) : *C. R. Soc. Biologie,* 1934, t. 115, pp. 931 et 1206.
Id. : *An. Inst. Pasteur,* 1934, t. 53, p. 598.
Lewandowski : *Tuberkulose der Haut.* Springer, Berlin, 1916.
Nasta (M.) : *Arch. roum. Path. expér. et Microb.,* 1928, t. 4, p. 541.
Nasta (M.) et Blechmann (M.) : *Arch. roum. Path. expér. et Microb.,* 1930, t. 4, p. 375.
Nasta (M.) : *Arch. roum. Path. expér. et Microb.,* 1935, t. 8, p. 317.
Pagel (W.), *in* Engel.-Pirquet : *Handbuch der Kindertuberkulose,* 1929, t. 1, p. 213.
Rist (E.), Doubrow (S.) et Froment (R.) : *Ann. Méd.,* 1930, t. 29, p. 310.

CONTRIBUTION A LA BIOCHIMIE DES MICROORGANISMES.

LA RÉPARTITION DE L'AZOTE DES BACILLES TUBERCULEUX ET DU *STERIGMATOCYSTIS NIGRA*.

DONNÉES SUR L'ÉVOLUTION DE L'AZOTE DES BACILLES TUBERCULEUX PENDANT LA CROISSANCE DES CULTURES (1)

par

M. D. MEZINCESCO

avec la collaboration de

MM. S. ISAC et V. ETTINGNER

(Travail de l'Institut d'Hygiène de Bucarest)

INTRODUCTION

Les données biochimiques concernant les microorganismes, quoique très nombreuses, sont encore très incomplètes. On ne peut considérer comme particulièrement significatives que celles apportées par l'étude des fermentations; données relatives aux modifications que subissent les milieux et n'apportant que des renseignements indirects sur les microbes. Quant à nos informations sur les caractères chimiques de la cellule microbienne, on peut affirmer que la plupart ne présentent qu'un intérêt limité. On en trouve de nombreuses sur la composition élémentaire des microorganismes (teneur en C, N, éléments minéraux, etc.), mais elles n'ont guère contribué à la connaissance de leur physiologie. D'autre part, les recherches d'ordre immu-

(1) Travail reçu à la rédaction le 31 août 1935.

nologique, inspirées par les travaux de Avery et de Heidelberger, ont un caractère unilatéral. Elles ont conduit à des résultats remarquables. Seulement leur interprétation est difficile parce que nos connaissances sur les mécanismes fondamentaux de la vie microbienne sont en défaut. Des progrès notables dans cette direction supposent, en premier lieu, l'étude des métabolites cellulaires et des réactions dans lesquelles ils sont engagés. Evidemment, le fait que nous sommes obligés de travailler sur des cultures, mélanges de cellules d'âges différents, est de nature à compliquer l'interprétation des données expérimentales. Mais comme la manifestation essentielle de la vie des microorganismes est leur reproduction, l'analyse des modifications chimiques que subit l'ensemble des corps microbiens pendant la croissance des cultures pourrait conduire à des résultats intéressants. C'est ce que semblent montrer, quand il s'agit des bacilles tuberculeux, les données de Théobald Smith, sur les modifications de la réaction des milieux; les recherches de Terroine et Lobstein, sur la teneur en graisses des différentes races de bacilles et ses modifications; enfin, les résultats des travaux plus récents de Treat B. Johnson et de ses collaborateurs, sur les variations de la teneur des milieux en ammoniaque, glucides et acide phosphorique.

Nous n'avons pas la possibilité d'analyser de près les travaux de ces auteurs. Disons seulement qu'il en ressort deux faits importants.

1° Ils montrent, en premier lieu, qu'entre les trois races de bacilles tuberculeux il y a non seulement des différences de virulence vis-à-vis de leurs hôtes habituels, mais encore des différences d'ordre biochimique : différences dans leurs teneurs en graisses et différences entre leurs actions sur les milieux de culture. Ainsi, on peut tenir comme définitivement établi que les bacilles humains contiennent moins de matières grasses que les bacilles bovins, qu'ils acidifient les milieux pendant que les bacilles bovins les alcalinisent, qu'enfin ils déterminent un enrichissement considérable des liquides de culture en substances réductrices, enrichissement qu'on ne constate pas dans les cultures de souches aviaires et bovines.

2° Ces travaux, ainsi que d'autres qu'ils ont complétés et vérifiés, montrent encore que les caractères différentiels que nous venons d'énumérer ne sont pas immuables et que, sous certaines conditions, ils peuvent évoluer. Ainsi, la substitution du glucose à la glycérine dans les milieux détermine l'augmentation de la

teneur en graisses des bacilles, et des repiquages fréquents, combinés avec des passages sur animaux de laboratoire, l'altération de la courbe des *p*H.

Il nous semble que ces faits doivent être rapprochés de quelques autres qui ont préoccupé longuement les microbiologistes. Ceux-ci ont constaté qu'on isole fréquemment des bacilles tuberculeux dont il est difficile de préciser le type par les essais habituels de virulence. Ils sont arrivés, d'autre part, à créer des souches avirulentes, comme le bacille de CALMETTE et GUÉRIN et celui de TRUDEAU, souches qui, quoique étiquetées encore bovines et humaines, ne le sont plus en réalité parce qu'ayant perdu la pathogénité. Et dans ces conditions on s'est demandé si les différentes races de bacilles sont des types permanents, des variétés bien définies possédant de véritables individualités, ou bien si elles ne sont que les résultats transitifs d'adaptations temporaires.

On a essayé de résoudre ce problème par les méthodes bactériologiques; mais il reste encore ouvert. Et cela n'est pas étonnant, car les essais de virulence, aussi bien que l'étude des caractères dits culturels, conduisent à des résultats complexes et dont l'interprétation est sujette à caution.

Or la question est de savoir si, une fois mises en doute les indications que donnent les expériences sur animaux de laboratoire, on pouvait trouver un ensemble de critériums biochimiques susceptible de leur être substitué.

C'est une des questions que nous nous proposons d'aborder dans nos recherches.

Que l'étude des matières grasses des bacilles ne permet pas d'établir des caractères différentiels assez tranchés, les travaux de ANDERSON l'ont montré de manière indubitable. D'ailleurs, l'extraction et la séparation des différentes graisses bacillaires sont des opérations trop laborieuses et, par conséquent, à rejeter. Par contre, il y a beaucoup de chances pour que l'étude de l'évolution de la répartition de l'azote microbien, aussi bien que celle des variations de leurs teneurs en glucides, fournissent des données significatives. En effet, la réaction des milieux de culture dépend sûrement du métabolisme protéique des bacilles, parce que le seul mettant en jeu une substance nettement alcaline, à savoir, l'ammonaique. D'autre part, T. B. JOHNSON, M^lle^ RENFREW et leurs collaborateurs viennent de montrer que les milieux cultivés avec des bacilles humains contiennent, après quelques semaines, beaucoup plus de substances réductrices que ceux cul-

tivés avec des bacilles aviaires. Or ces réactions des microorganismes sur les liqueurs-mères, variables d'une souche à l'autre, ne peuvent être que les échos d'évolutions différentes de la composition globale de l'ensemble des corps microbiens. Il est donc légitime de supposer que l'étude des variations de composition corrélatives à l'âge des cultures pourrait fournir des données permettant l'identification des différentes variétés de bacilles. Nous nous proposons d'essayer de vérifier cette hypothèse, et le présent travail, première étape dans cette voie, a pour objet l'établissement de l'évolution de la répartition de l'azote d'un bacille tuberculeux humain. Le choix de la souche est arbitraire. Quant à celui des dosages à effectuer, il nous a paru s'imposer de suite. En effet, des caractères différentiels que nous avons mentionnés, ceux relatifs à l'évolution de la réaction du milieu sont de beaucoup les plus frappants et les mieux connus — et, comme nous l'avons fait remarquer, ces caractères doivent être sous la dépendance du métabolisme azoté des micro-organismes. Dans ces conditions, il était tout indiqué de faire porter nos recherches en premier lieu sur la constitution azotée des bacilles et sur les modifications de celle-ci avec leur âge.

Nous croyons d'ailleurs que l'étude de ces questions pourrait fournir des données intéressantes d'un autre point de vue encore.

Il est connu que les courbes de croissance des différentes espèces microbiennes ont des formes analogues et correspondent à des équations du type :

$$N = \frac{1}{1 + e^{-k(t - t_1)}}$$

On a essayé de deux modes de raisonnements pour leur interprétation. Pour Buchanan, l'allure des courbes serait déterminée par l'existence d'un temps de latence dans la reproduction des cellules ensemencées et l'action de facteurs empêchants qui s'accumulent avec le temps (théorie de phases). D'autre part, Robertson, assimilant le développement d'une culture à une réaction auto-catalytique, admet que son intensité serait déterminée en chaque instant par le nombre de germes que contient la culture et la quantité d'aliments dont ils disposent. Ces considérations, d'ailleurs contradictoires dans leurs principes, sont d'ordre plutôt hypothétique. Notamment, elles supposent vraie l'affirmation implicite qu'il n'y a pas mort et autolyse de cellules avant que le cycle de croissance n'ait été accompli. Or, dans le cas des bacilles tuberculeux tout au moins, cette affirmation

est inexacte. En effet, quoique les cultures de ces microbes atteignent seulement en six semaines leur stade de développement maximum, les liqueurs-mères deviennent troubles, parce que contenant des bacilles morts, dès le commencement de la quatrième semaine ; elles commencent d'ailleurs à peu près à la même époque à donner les réactions des protéines; ce qui signifie qu'à partir de la troisième semaine, en même temps qu'une partie des microbes continue à proliférer, d'autres meurent et s'autolysent; ce qui signifie encore que les courbes de croissance traduisent les résultats de l'interférence de phénomènes contraires et que les théories que nous avons mentionnées ne sauraient être acceptées sans réserves.

Il nous a paru que l'étude des variations de la répartition de l'azote microbien confirmera le fait que nous venons de signaler : la coexistence pendant certaines périodes de la vie des cultures de prolifération et d'autolyse; et qu'elle permettra d'établir avec plus de précision le moment auquel commencent les processus autolytiques. Quoi qu'il en soit, il est évident que pour édifier une théorie de la croissance des microorganismes, il est utile de connaître de plus près les phénomènes dont la variation de poids d'une culture n'est que la résultante. Ces phénomènes, en premier lieu synthèse et hydrolyse des protéines microbiennes, supposent mobilisation d'azote soluble et condensation de celui-ci; puis dislocation des molécules protéiques et production finale d'azote minéral. Et dans ces conditions, il était à prévoir que l'étude de l'évolution de l'azote des cultures fournira des renseignements significatifs, à l'aide desquels on pourra compléter et rectifier les théories que nous avons analysées.

Cette évolution, il était désirable de l'établir par dosages successifs, à des intervalles de temps convenables, de tous les composés azotés que contiennent les microbes. Seulement nous ne connaissons que quelques-uns de ces composés, et parmi eux il y en a que nous ne savons pas doser, dans des conditions applicables au cas qui nous intéresse. Nous avons dû faire un choix. Un travail de BONNET, que nous aurons l'occasion de citer souvent encore, nous a beaucoup aidé à cela. Portant sur l'évolution de l'azote au cours de la germination, problème en un certain sens analogue à celui qui nous préoccupait, ce travail montre que dans les phénomènes de synthèse et d'autolyse de protéines il y a variations importantes des teneurs des végétaux en peptones, amino-acides, ammoniaque, amides et acide nitrique. C'est en premier lieu sur ces formes d'azote que nous avons fait porter nos

dosages, parce que ayant à considérer un problème plus ou moins comparable à celui qu'envisageait Bonnet ; et aussi parce que, s'il y a parallélisme entre l'évolution de l'azote des bacilles et la manière dont ils influent sur la réaction du milieu, ce parallélisme doit se traduire par des variations dans leur teneur en substances acides et alcalines : acide azotique et ammoniaque.

La considération des travaux de Terroine et Szucs, sur le rapport des corps puriques aux protides chez les microorganismes, nous a déterminé d'ajouter à ces dosages quelques autres encore. Ces auteurs montrent que le taux de corps puriques que contiennent les mycéliums de *Sterigmatocystis Nigra* constitue une mesure de leur stade de développement, ce taux diminuant quand la culture vieillit. Il était intéressant d'établir si ce fait a une portée générale et, en particulier, si on le retrouve chez les bacilles tuberculeux. D'autre part, depuis les travaux de Parnas sur l'ammoniogénèse musculaire, on sait que, tout au moins dans le cas qu'il a étudié, ce n'est pas tant l'acide nucléinique qui joue un rôle important dans le métabolisme des purines, mais plutôt ses produits d'hydrolyse et spécialement les nucléotides.

Il nous a paru que ces faits constituaient autant de motifs pour essayer de doser — en même temps que les composés azotés mentionnés déjà — les différentes formes d'azote purique que contiennent les bacilles, à savoir : l'azote purique nucléinique libre et combiné, celui des nucléotides, enfin celui des nucléosides et des bases libres.

Nous nous proposons d'ailleurs de discuter de plus près l'intérêt de ces derniers dosages après en avoir donné les résultats.

Au total :

Tenter d'établir d'éventuels caractères biochimiques du bacille tuberculeux humain pouvant servir à sa différentiation d'avec les variétés voisines, tout en acquérant des données nouvelles sur sa constitution et sur l'évolution d'une colonie microbienne; et, pour cela, déterminer sur des cultures d'âges progressivement croissants l'azote total et ses principales fractions : protéines, peptones, acides aminés, ammoniaque, amides, acide nitrique, acide nucléinique libre et combiné, nucléotides, nucléosides, bases puriques,

Tel est le but du présent travail (1).

(1) Les données sur la répartition de l'azote du *Sterigmatocystis Nigra* sont extraites d'un mémoire inédit, concernant la biochimie de cette moisissure. Elles apportent une vérification générale de nos méthodes analytiques et nous serviront aussi pour la discussion de quelques-uns des résultats de ce travail.

TECHNIQUE

1° **Culture et récolte.** — Nous avons travaillé sur des cultures d'un bacille tuberculeux humain de virulence atténuée, le bacille dit R_1 ou de TRUDEAU (isolé aux Etats-Unis dans le laboratoire du Sanatorium Trudeau de Saranac Lake N. Y.). Le microbe était cultivé sur le milieu de SAUTON, que nous ensemencions avec des fragments de voile microbien de quelques millimètres carrés provenant de cultures de 3 semaines. En effet, pour obtenir des cultures croissant normalement, il est nécessaire d'ensemencer largement et d'employer pour cette opération des cultures entrant dans leur phase logarithmique de croissance. Après ensemencement, les flacons étaient placés dans une chambre-thermostat réglée à 37°5 C. La récolte des microbes était réalisée par filtration des cultures sur entonnoir de BUCHNER à la trompe. Les microbes recueillis étaient lavés abondamment avec de l'eau distillée, puis essorés. Nous les divisions généralement en quatre échantillons : un employé pour le dosage de l'humidité, un second pour le dosage de l'azote total, le troisième pour le dosage de l'azote non protidique et de ses différents constituants, enfin le quatrième pour le dosage des différentes formes d'azote purique.

2° **Méthodes de dosage.** — Comme il a été dit déjà, nos dosages ont porté sur : l'azote total, l'azote protidique, l'azote non protidique, l'azote des peptones, l'azote des amino-acides, l'azote de l'ammoniaque, l'azote des amides, l'azote nitrique; enfin sur les différentes formes d'azote purique, à savoir : des nucléoprotides et des acides nucléiniques d'une part, des nucléotides d'autre part, enfin des nucléosides et des bases puriques libres.

Dans ce qui suit nous décrirons les méthodes que nous avons employées pour ces dosages.

Nous ferons remarquer dès à présent que ces méthodes n'ont rien d'original et qu'on en trouvera les principes et leurs justifications dans les différents mémoires et traités auxquels nous renvoyons.

Ainsi, les méthodes que nous avons employées pour le dosage des différentes formes d'azote soluble ont été mises au point et justifiées par BONNET et on en trouvera la description complète dans le mémoire de cet auteur sur l'évolution de l'azote au cours de la germination.

Quant à celles que nous avons employées pour le dosage de l'azote purique des nucléo-protides, des nucléotides et des nucléosides, ce sont les méthodes classiques de KRUGER et SCHMID, telles que les décrit PARNAS dans son travail sur l'ammoniogénèse musculaire.

Cela étant, nous décrirons nos techniques aussi brièvement que possible, insistant seulement sur les détails qui en font les particularités, et nous nous abstiendrons de mentionner les nombreux essais effectués pour en contrôler la validité. Nous ne ferons d'exception que pour quelques essais constituant une vérification de la méthode de PARNAS, qui n'a pas été beaucoup employée jusqu'à présent.

A. DÉTERMINATION DU POIDS SEC. — Les résultats de nos dosages ont été rapportés à l'azote total et au poids sec des microbes analysés. Le poids sec a été déterminé de la manière habituelle, par chauffage d'une quantité connue de bacilles à 110° jusqu'à poids constant.

B. DOSAGE DE L'AZOTE TOTAL. — Nous avons employé la méthode de KJELDHAL. Comme le fait remarquer BONNET, cette méthode ne donne pas la totalité de l'azote, l'acide nitrique étant chassé par l'acide sulfurique et son azote échappant au dosage. L'azote nitrique a été dosé séparément, ainsi qu'on le verra. Il a été ajouté à l'azote trouvé par KJELDHAL et nos chiffres d'azote total correspondent à l'ensemble : azote dosé par KJELDHAL, azote nitrique.

C. DOSAGE DE L'AZOTE PROTIDIQUE ET NON PROTIDIQUE. — Ces dosages ont été réalisés par la méthode de ERWIN VOIT (extraction des bacilles à l'eau, précipitation des protéines extraites en solution alcoolique et saline, filtration et dosage de l'azote soluble non protidique, détermination de l'azote protidique par différence ; le chiffre d'azote non protidique, établi par KJELDHAL, a été corrigé par addition de l'azote nitrique).

Il est à noter que pour la réalisation d'une meilleure extraction par l'eau des constituants azotés solubles, nous avons cru devoir procéder, avant les opérations décrites ci-dessus, à un dégraissement partiel des bacilles.

En effet, il est généralement admis qu'une partie des matières grasses du bacille tuberculeux forme une espèce de membrane extérieure cireuse s'opposant à la diffusion des matières extrac-

tives. JOHNSON et M^lle^ RENFREW donnent à cet égard des chiffres démonstratifs et montrent qu'on obtient par extraction aqueuse de bacilles dégraissés à l'éther froid de quatre à dix fois plus de protéines solubles qu'on n'en obtient de bacilles non dégraissés ou dégraissés à l'alcool-éther ou au chloroforme (avec ou sans passage préliminaire à l'autoclave). Il est vrai que dans le cas qui nous intéresse il n'était pas question d'extraire des protéines, mais il était à présumer : d'une part, que la diffusion hors les corps microbiens des protéines est parallèle à celle des autres constituants solubles; d'autre part, qu'on n'a aucun intérêt, bien au contraire, à déterminer une coagulation des protéines avant que l'extraction ne soit complète. C'est ce que tendent à montrer d'ailleurs les conclusions d'une étude de JOHNSON et COGILL sur les méthodes à employer pour l'analyse du bacille tuberculeux, ainsi qu'un travail de M^lle^ RENFREW.

Ces considérations nous ont conduit à procéder de la manière suivante. Les bacilles, après essorage, sont introduits dans un flacon à large col où ils sont pesés. On les couvre d'éther et on laisse le tout à la glacière pendant quelques semaines en agitant de temps à autre. Le contact prolongé avec l'éther détermine une extraction de graisses assez avancée et, d'autre part, présente l'avantage de tuer les microbes dans des conditions ne pouvant pas déterminer une altération de la répartition de leur azote non plus que la coagulation de leurs protéines. Après séjour à la glacière, le contenu du flacon est versé dans le mortier où aura lieu le broyage, et le flacon est soigneusement lavé avec un peu d'eau légèrement acidulée. On chasse enfin l'éther par aération, après quoi on continue comme il a été dit plus haut.

D. DOSAGE DE L'AZOTE DES PEPTONES. — Ainsi que BONNET, nous avons considéré comme azote des peptones celui des substances contenues dans le filtrat de la méthode de VOIT qui précipitent par addition d'acétate basique de plomb. Nous avons dosé cet azote par différence, ajoutant à un certain volume de filtrat 25 % de solution d'acétate à 10 %, filtrant le précipité après dépôt, et dosant l'azote restant dans la liqueur filtrée par la méthode de KJELDHAL. Cette fois-ci encore on a tenu compte du fait que l'azote nitrique n'est pas dosé par cette méthode.

E. DOSAGE DE L'AZOTE DES AMINO-ACIDES. — Cette détermination nous a causé assez d'embarras parce que les quantités d'azote aminé qu'il s'agissait de doser étaient très petites et que, d'autre

part, les méthodes pour le dosage de l'azote aminé sont assez approximatives. Nous avons essayé tour à tour la méthode de Van Slyke, celle de Sorensen, enfin une méthode colorimétrique de Folin. Aucune ne nous a donné satisfaction. Peut-être qu'avec le micro-appareil de Van Slyke nous aurions obtenu des résultats convenables. Malheureusement nous ne disposions que de l'appareil ordinaire. Les chiffres qu'on trouvera plus loin, et que nous ne donnons que pour préciser un ordre de grandeur, ont été établis soit par formol-titration, soit par gazométrie, sur la liqueur filtrée provenant du dosage précédent. Pour l'application de la méthode de Van Slyke nous avons suivi les indications de Bonnet, et pour la formol-titration celles de Rona et Kleinmann. Les chiffres obtenus ont été corrigés par soustraction de l'azote ammoniacal.

F. Dosage de l'ammoniaque, de l'azote des amides et de l'azote nitrique. — Nous avons employé pour ces dosages l'appareil de Yovanovitch et l'excellent ensemble de méthodes décrit et mis au point par Bonnet. Il est constitué par les opérations suivantes, réalisées successivement sur un même échantillon de la liqueur contenant l'azote non protidique :

— mise en liberté de l'ammoniaque par du carbonate de lithium, suivie de distillation sous pression réduite par entraînement avec de la vapeur d'eau ;

— hydrolyse des amides et distillation de l'ammoniaque formée ;

— enfin, réduction alcaline de l'acide nitrique suivie encore de distillation.

On trouvera les détails des opérations dans le mémoire de Bonnet. Nous ne leur avons apporté qu'une seule modification. En vue d'augmenter la sensibilité et la précision de la méthode, nous avons substitué, pour la fixation de l'ammoniaque et la titration finale, aux solutions N/70 que recommande cet auteur, des solutions N/200. Comme avec des solutions si diluées la tritration acidométrique au méthyl-rouge n'est plus possible, nous avons remplacé cet indicateur par un indicateur mixte « rouge de méthyl-bleu de méthylène » recommandé par Kolthoff, qui donne à l'ébullition des virages parfaits du violet au vert à *p*H 5 environ. Pour quelques-uns de nos dosages nous avons employé encore, toujours avec des solutions N/200, la titration par iodométrie (Kolthoff). Nous avons obtenu dans tous les cas de bons résultats à condition de très bien surveiller la distillation.

G. Dosage des différentes formes d'azote purique. — Nous avons fractionné l'azote purique total de la manière suivante : 1° de nucléoprotides et de l'acide nucléinique libre ; 2° des nucléotides; 3° des nucléosides et des bases libres. Nous avons effectué la séparation de ces fractions et le dosage de leur azote purique par les méthodes de Kruger et Schmid et la technique employée par Parnas dans son étude sur l'ammoniogénèse musculaire. Parnas dose ensemble l'azote purique des nucléosides et celui des bases libres. Nous avons procédé de même, non pas tant pour ne pas trop compliquer notre travail, mais surtout parce que des essais préliminaires nous ont montré que l'azote purique libre des bacilles représente toujours des quantités infimes qu'il aurait été inutile d'essayer de déterminer avec quelque exactitude.

Nous avons procédé comme suit :

Les bacilles sont dégraissés à l'éther pendant quelques semaines, après quoi ils sont transvasés, ainsi que l'éther avec lequel ils ont été en contact, dans un mortier. Le flacon où ils ont été dégraissés est lavé à l'eau acidulée. L'eau de lavage est recueillie dans le mortier et l'éther est chassé par aération. On broye les bacilles avec du sable, tout en leur ajoutant une quantité connue d'acide sulfurique à 1 %. Puis le brai obtenu est versé dans une capsule contenant, pour 100 cm^3 de solution acide employée pour le broyage et l'extraction, 200 cm^3 d'une solution bouillante d'acétate de sodium 2N/5. En présence de l'acide acétique mis en liberté par l'acide sulfurique et à l'ébullition, les protéines et l'acide nucléinique précipitent. On filtre à la trompe et on lave bouillant avec une solution d'acétate de sodium acidifiée par de l'acide acétique. On obtient ainsi: d'une part, un précipité contenant les corps bacillaires, leur protéine et tout leur acide nucléinique, précipité que nous nommerons A et sur lequel sera réalisé le dosage de la première fraction d'azote purique ; d'autre part, une solution limpide contenant les nucléotides, les nucléosides et les bases puriques libres.

Le filtrat est traité ainsi qu'il suit en vue de la séparation des nucléotides.

On le neutralise au tournesol, après quoi on lui ajoute, pour chaque 100 cm^3, 10 cm^3 de solution saturée d'acétate d'uranyle et 0,5 cm^3 de solution saturée de phosphate de sodium PO_4Na_2H. On obtient un précipité abondant contenant sous forme de combinaison uranylique les nucléotides. On porte le vase où a eu lieu la précipitation sur un bain-marie où on le laisse quelque temps, ce qui favorise l'agglomération du précipité et sa filtration ulté-

rieure. Celle-ci doit être faite sur un bon papier à filtrer (de Schleicher et Schull à bande bleue; le papier ordinaire laisse passer le précipité). Le lavage du précipité se fait avec une solution diluée d'acétate d'uranyle. Les eaux de lavage sont réunies au filtrat principal et on obtient ainsi deux nouvelles fractions : le précipité que nous nommerons B et qui contient les nucléotides, et le filtrat que nous nommerons C, contenant les nucléosides et les bases libres.

Traitement du précipité A (contenant tout l'acide nucléinique). — On l'introduit dans un Erlenmeyer, on lui ajoute une quantité suffisante d'acide sulfurique à 1 % et on hydrolyse durant quatre heures à l'autoclave et à 115° environ. Après hydrolyse, on neutralise le milieu avec de la soude, on acidifie nettement avec de l'acide acétique, on chauffe quelque temps au bain-marie pour amener la précipitation de l'azote humique, enfin on filtre bouillant et on lave avec une solution acétique de sulfate de sodium. Les purines mises ainsi en solution sont séparées par double précipitation cuivreuse comme il sera montré plus loin.

Traitement du précipité B (contenant les nucléotides). — Le précipité est repris avec de l'eau et dissous par addition d'acide sulfurique à 10 %. La solution obtenue est chauffée au bain-marie pendant 45 minutes pour déterminer la décomposition des nucléotides. Puis on précipite son urane par alcalinisation avec de la soude et on filtre. Le précipité est dissous dans de l'acide sulfurique et on précipite une seconde fois l'urane, après quoi on filtre et on lave. On réunit les deux filtrats et les eaux de lavage, on acidifie au bleu de Congo et on hydrolyse pendant deux heures à l'autoclave pour parfaire la mise en liberté des purines. Celles-ci sont précipitées en complexe cuivreux.

Traitement de la liqueur C. — La liqueur contient les nucléosides et les purines libres. Elle est débarrassée de l'urane par alcalinisation et filtration. Le filtrat et les eaux de lavage sont évaporés à petit volume, la liqueur est acidulée au papier de Congo, puis on passe le tout dans un Erlenmeyer et on hydrolyse pendant deux heures à 115°, ensuite de quoi on précipite la totalité des purines par la méthode Kruger et Schmid.

Précipitation des purines. — Elle a été réalisée par la méthode de Kruger et Schmid, selon les indications de Boivin. Lors des dosages d'azote purique provenant des nucléoprotides

(dosages effectués sur les hydrolysats des fractions A), le complexe cuivreux était décomposé par traitement au sulfure de sodium et la précipitation était recommencée. Des essais préliminaires nous ont montré qu'ainsi qu'il était à prévoir, il n'est pas nécessaire de recourir à cette double précipitation pour la séparation des purines des fractions B et C. La détermination de l'azote précipité à été effectuée par combustion du complexe cuivreux et distillation de l'ammoniaque formée. Pour les titrations finales nous avons employé, suivant les nécessités, soit des solutions N/70, soit des solutions N/200 et l'indicateur mixte que nous avons mentionné.

Contrôle de la méthode. — Comme, à notre connaissance du moins, on n'a pas appliqué souvent la méthode décrite ci-dessus à l'étude de la composition des tissus végétaux, nous croyons devoir donner les résultats des essais faits pour en contrôler la validité dans le cas qui nous intéresse.

Nous avons procédé à deux espèces d'essais : d'une part, à des séparations portant sur une solution de nucléotides, de nucléosides et de bases libres, et cela pour nous rendre compte du degré de rigueur de la méthode; d'autre part, à des dosages portant sur un mélange d'extrait bacillaire et de solution ci-dessus, — dosages réalisés, par conséquent, dans des conditions identiques à celles de nos déterminations. Nous n'avons pas cru devoir compliquer nos essais de contrôle en y englobant aussi la séparation de l'acide nucléinique, celui-ci étant éliminé dès le début des opérations par des manipulations simples.

La solution de bases, nucléosides et nucléotides, que nous avons employée, a été obtenue par hydrolyse ménagée d'une solution d'acide nucléinique commercial, laquelle a été débarrassée de l'acide non hydrolysé par centrifugation, après traitement à l'ébullition avec une solution acétique d'acétate de sodium.

Voici les résultats de deux dosages parallèles effectués sur cette solution et portant sur des quantités de purines de même ordre de grandeur que celles contenues dans nos extraits.

Premier dosage. — On a précipité les nucléotides contenues dans 50 cm^3 solution, par addition de 25 cm^3 d'une solution saturée d'acétate d'uranyle et 1,5 cm^3 d'une solution saturée de phosphate de sodium. Après filtration, élimination de l'urane et hydrolyse, opérations réalisées comme plus haut, on a séparé en complexe cuivreux les purines précipitées (provenant des nucléo-

tides) aussi bien que celles restées en solution (libres et des nucléosides). Les précipités cuivreux ainsi obtenus ont été brûlés avec de l'acide sulfurique ; après combustion on a porté les liqueurs à 100 cm³, et les distillations, effectuées sur 25 cm³, ont donné les résultats suivants :

a) *Distillation de l'ammoniaque provenant de l'azote purique des nucléotides.* — On a obtenu une quantité d'ammoniaque correspondant à 5,29 cm³ de solution acide N/70, d'où il s'en suit que le précipité provenant des nucléotides contenait 0,00423 = azote purique (5,29 × 4 × 0,0002).

b) *Distillation de l'ammoniaque provenant de l'azote purique des nucléosides et des bases libres.* — On a obtenu une quantité d'ammoniaque correspondant à 2,89 cm³ solution acide N/200, ce qui signifie que l'azote purique resté en solution après précipitation uranylique représentait une quantité de 0,00081 = (2,89 × 4 × 0,00007).

Second dosage. — On a travaillé comme ci-dessus sur 100 cm³ de solution en employant 30 cm³ de solution uranylique et 1,5 cm³ de solution de phosphate. La neutralisation de l'ammoniaque provenant de l'azote purique des nucléotides a demandé l'emploi de 10,58 cm³ de solution acide N/70, ce qui correspond à une quantité totale d'azote de 0,00846 (: 2 = 0,00423). Celle d'ammoniaque provenant des bases libres et des nucléosides, l'emploi de 5,32 cm³ de solution N/200. A cette dernière neutralisation correspond 0,00149 = N (: 2 = 0,00075).

La différence entre les résultats des deux dosages de N purique provenant des nucléosides et des bases libres est assez grande; pas si grande pourtant pour que nous ne puissions les considérer comme acceptables.

Dosages sur un mélange d'extrait et de solution. — L'extrait a été obtenu comme il a été dit précédemment de 16,8 = bacilles secs. 100 cm³ d'extrait contenaient, après élimination de l'acide nucléinique, 0,00129 = N purique nucléotidique et 0,001 = N purique provenant des bases et des nucléosides. A 100 cm³ extrait on a ajouté 50 cm³ de la solution employée pour les dosages précédents. On a trouvé :

N des nucléotides, 0,00547 (0,00129, 0,00423 = 0,00552).

N des nucléosides, etc., 0,00180 (0,001, 0,00078 = 0,00178).

A tout prendre, l'ensemble des résultats de nos contrôles est

très satisfaisant. On peut noter d'ailleurs que, cherchant à établir en premier lieu les variations de la teneur des bacilles en certains de leurs constituants, si ces variations venaient à tomber sous les limites d'erreur de nos méthodes, elles ne présenteraient plus d'intérêt parce que négligeables.

3° **Vérification générale des méthodes analytiques.** — Il nous a paru que des analyses en double sur quelques-uns de nos échantillons auraient constitué, si elles avaient été concordantes, une vérification satisfaisante de l'ensemble de nos techniques. Seulement il nous aurait été difficile de cultiver en une seule fois assez de bacilles pour pouvoir effectuer deux analyses sur un même échantillon. Nous avons essayé de tourner la difficulté en réalisant deux analyses parallèles sur deux échantillons différents de bacilles de 3 semaines. On en trouvera les résultats plus loin (tableau II); on verra qu'ils ne paraissent pas très satisfaisants. Nous nous en expliquons les différences par le mauvais choix de l'âge des cultures. En effet, il arrive rarement que deux lots de cultures de bacilles tuberculeux se développent à même allure pendant les premières semaines; et cela parce que les conditions d'ensemencement ne sont jamais identiques. Comme les différences de croissance se tassent avec l'âge, il est probable qu'avec des cultures plus vieilles nous aurions obtenu des résultats convenables. Qu'en réalité les désaccords entre les deux séries de chiffres tiennent à un manque d'identité des échantillons et non pas à des erreurs de technique, de nombreuses analyses parallèles sur des cultures de *Sterigmatocystis Nigra* nous l'ont montré sans ambiguïté. On trouvera dans le tableau I les résultats de deux de ces analyses. Ils apportent une preuve satisfaisante de la validité des méthodes employées.

TABLEAU I. — **Analyses de cultures de *Sterigmatocystis Nigra* de 3 jours ; cultures sur milieu de Raulin.**

	g. échantillon 1			g. échantillon 2			g. échantillon 3			g. échantillon 4			Moyennes g. °/₀	
	a	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	*a*	*b*	*c*	Poids sec	N tot.
Substance humide	14,740	0,4821	0.4840	13,850	0,6879	0,4862	17,870	0,8175	0,6370	16,080	1.3649	0,8114	—	—
Eau	12,047	0.3940	0,3956	11,285	0 5605	0,3962	15,118	0,6916	0,5389	13,404	1,1378	0,6764	—	—
Substance sèche ...	2,693	0,0881	0,0884	2,565	0,1274	0,0900	2,752	0,1259	0,0981	2,676	0,2271	0,1350	100	—
		g.°/₀ du poids sec			g °/₀ du poids sec			g.°/₀ du poids sec			g.°/₀ du poids sec			
N total	0,1518	5,64	0,0050*	0,1452	5.66	0.0051	0,1635	5.94	0,0058*	0,1509	5,64	0.0076	5,72	100
			g. °/₀ de N tot.			g.°/₀ de N tot.			g.°/₀ de N tot.			g.°/₀ de N tot.		
N non protidique .	0,0526	1,95	34.65	—	—	—	0,0602	2,19	36,82	—	—	—	2,07	35.73
N protidique	0,0992	3,69	65,35	—	—	—	0,1033	3,75	63,18	—	—	—	3,71	64,27
N des peptones ...	0,0094	0,35	6,19	—	—	—	0,0006	0,50	8,37	—	—	—	0,42	7.28
N des amino-acides	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
N ammoniacal	0,0015	0,057	0,99	—	—	—	0,0013	0,047	0,80	—	—	—	0,052	0,89
N des amides	0,0006	0,022	0,39	—	—	—	0,0006	0,022	0,37	—	—	—	0,022	0,38
N nitrique	0,0005	0,019	0,33	—	—	—	0,0006	0,023	0,37	—	—	—	0,021	0.35
N purique total ...	—	—	—	0,0736	0,29	5,07	—	—	—	0,0763	0,28	5,06	0,285	5,06

* Valeurs non corrigées par addition de l'azote nitrique.

TABLEAU II. — **Analyses de cultures de B. tuberculeux R_1 de 3 semaines.**

	g, échantillon 1.				g, échantillon 2			Moyennes g. °/₀	
	a	*b*	*c*	*d*	*a*	*b*	*c*	Poids sec	N tot.
Substance humide	28,550	29,350	1,5407	1,5911	13,570	1,2627	1,7329	—	—
Eau	22,346	22,972	1,2059	1,2454	10,674	0,9932	1,3631	—	—
Substance sèche	6,204	6,378	0,3348	0,3457	2,896	0,2695	0,3698	100	—
			g °/₀ du poids sec			g. °/₀ du poids sec			
N total	0,4508	0,4637	7,27	0,0250	0,2349	8,11	0,0298	7,69	100
				g. °/₀ de N. tot.			g. °/₀ de N. tot.		
N non protidique	0,0587	—	0,95	13,02	0,0227	0,78	9,66	0.86	11,35
N protidique	0,3921	—	6,32	86,98	0,2122	7,33	90,34	6,83	88,65
N des peptones	0,0185	—	0,30	4,10	0,0070	0,24	2.98	0,27	3,54
N des amino-acides	0,0197	—	0,32	4,37	—	—	—	0,32	4.37
N ammoniacal	0,0074	—	0,12	1,65	0,0033	0,11	1,40	0,11	1,52
N des amides	0,0032	—	0,05	0,71	0,0013	0,04	0,55	0,04	0,63
N nitrique	0,0023	—	0,04	0,51	0.0012	0,04	0,51	0,04	0,51
N purique total	—	—	—	—	—	—	—	—	—
N P de l'acide nucl.	—	0,0258	0,40	5,56	—	—	—	0,40	5,56
N P des nucléotides	—	0,0013	0,02	0,28	—	—	—	0,02	0,28
N P des nucléosides et des purines libres	—	—	—	—	—	—	—	—	—

RÉSULTATS EXPÉRIMENTAUX

Les dosages ont porté sur huit échantillons de bacilles : les deux premiers de 3 et les suivants respectivement de 4, 5, 6, 7, 9 et 11 semaines. Le choix de l'âge des bacilles a été déterminé, entre autres motifs, par le désir de pouvoir comparer nos chiffres

TABLEAU III. — **Analyses de cultures de B. tuberculeux R_1 de 4 semaines.**

g.	*a*	*b*	*c*	*d*
Substance humide	39,820	40,570	1,0187	0,8574
Eau	30,570	31,146	0,7821	0,6582
Substance sèche	9,250	9,424	0,2366	0,1902
			g. °/₀ du poids sec	
N total	0,7759	0,7905	8,39	0,0167*
				g. °/₀ de N tot.
N non protidique	0,0468	—	0,50	6,03
N protidique	0,7291	—	7,89	93.97
N des peptones	0,0010	—	0,01	0,13
N des amino-acides**	0,0461	—	(0,50)	(5,94)
N ammoniacal	0,0046	—	0,05	0,59
N des amides	0,0031	—	0,03	0,40
N nitrique	0,0008	—	0,01	0,10
N purique total	—	0,0310	0,33	3,92
N P de l'acide nucl.***	—	0,0270	0,29	3,45
N P des nucléotides	—	0,0031	0,03	0,39
N P des nucléosides et des purines libres	—	0,0006	0,01	0,07

* Valeur non corrigée par addition de l'azote nitrique.
** La détermination a été réalisée par la méthode de Sörensen.
*** La détermination a été répétée sur un cinquième échantillon de 39,05 g. ; on a trouvé 0,0265 g. N, ce qui correspond à 3,48 % de N total.

avec ceux de JOHNSON et Mlle RENFREW. Ces auteurs ont analysé des liqueurs-mères provenant de cultures de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 12 et 16 semaines. Il nous aurait été difficile d'analyser des microbes de moins de 3 semaines : pour disposer d'échantillons assez grands de bacilles de 1 et 2 semaines, nous aurions dû ensemencer quelques centaines de flacons ; nous n'en avions pas tant, ni la possibilité de les manipuler. D'autre part, nous avons pensé

— probablement à tort, croyons-nous maintenant — que l'analyse de bacilles de plus de 11 semaines ne pourrait pas apporter des données particulièrement significatives.

Les résultats des dosages sont réunis dans les tableaux II à VIII. Ils ont été rapportés au poids sec des microbes analysés et à leur azote total. Le tableau I comprend les données relatives au *Sterigmatocystis Nigra.*

TABLEAU IV. — **Analyses de cultures de B. tuberculeux R_1 de 5 semaines.**

g.	*a*	*b*	*c*	*d*
Substance humide	10.360	27,700	1,5277	1,2732
Eau	8,344	22,310	1,2304	1,0254
Substance sèche	2,016	5,390	0,2973	0,2478
			g. °/o du poids sec	
N total	0,1796	0,4797	8,90	0.0219*
				g. °/o de N tot.
N non protidique	0,0125	—	0,62	6,96
N protidique	0,1671	—	8,29	93 04
N des peptones	0,0046	—	0,23	2,56
N des amino-acides	—	—	—	—
N ammoniacal	0,0017	—	0,08	0.95
N des amides	0,0035	—	0,02	0,19
N nitrique	0,0014	—	0,07	0,78
N purique total	—	0.0164	0,30	3,42
N P de l'acide nucl.	—	0.0136	0,25	2,84
N P des nucléotides	—	0 0013	0.02	0,27
N P des nucléosides et des purines libres	—	0.0015	0,03	0,31

* Valeur non corrigée par addition de l'azote nitrique.

A propos de ces résultats, nous ferons remarquer dès maintenant, qu'en dépit du fait que les deux analyses parallèles figurant dans le tableau II ne sont pas toujours concordantes, nous avons pris la liberté d'en exprimer les données par des moyennes, et cela parce que, vis-à-vis des chiffres correspondant aux autres échantillons, elles ont une même signification.

Encore une dernière remarque. Comme il a été dit déjà, nous n'attachons pas beaucoup de valeur à nos dosages d'azote aminé. On en trouvera des résultats manifestement inacceptables. Ils ne

figurent dans les tableaux que parce qu'ils semblent montrer que l'azote aminé représente à peu près la totalité de l'azote soluble autre que celui exactement dosé.

DISCUSSION DES RÉSULTATS

Comparaison avec les données antérieures. — Avant d'examiner du point de vue des problèmes envisagés la signification

Tableau V. — **Analyses de cultures de B. tuberculeux R_1 de 6 semaines.**

g.	a	b	c	d
Substance humide	6,260	26,000	1,8259	2,4000
Eau	5,516	22,911	1,6089	2,1149
Substance sèche	0,744	3,089	0,2170	0,2851
			g. % de poids sec	
N total	0,0682	0,2833	9,17	0,0259*
				g. % de N tot.
N non protidique	0,0053	—	0.71	7,77
N protidique	0,0629	—	8.46	92,23
N des peptones	0,0017	—	0,23	2,49
N des amino-acides	—	—	—	—
N ammoniacal	0,0056	—	0,07	0,82
N des amides	0,0026	—	0,03	0,38
N nitrique	0,0075	—	0.10	1,10
N purique total	—	0 0104	0,34	3,67
N P de l'acide nucl.	—	0,0089	0,29	3.14
N P des nucléotides	—	0,0006	0,02	0,21
N P des nucléosides et des purines libres	—	0,0009	0,03	0,32

* Valeur non corrigée par addition de l'azote nitrique.

des différentes données que nous apportons, il convient de les comparer avec celles analogues de Terroine et Szucs, relatives au *Sterigmatocystis Nigra* et aux bacilles tuberculeux, et certaines autres publiées récemment par Boivin et Mme Mesrobeanu.

Nos données sur la teneur en N total des myceliums de *Sterigmatocystis* sont assez approchées de celles de Terroine et Szucs. Nous avons trouvé 5,64, 5,66, 5,94 et 5,64 = N total % de poids

sec, et ces auteurs 5,67, 5,35 et 7,94. Les données concernant l'azote total des bacilles tuberculeux s'accordent moins bien : Terroine et Szucs trouvent 5,43 et 5,61 = N total %, et nos chiffres sont compris entre 7,29 et 9,17. De même, il n'y a pas concordance entre les chiffres concernant l'azote non protidique. Nos valeurs pour la moisissure sont 34,65 et 36,62 (% de N total) ; Terroine et Szucs trouvent 22,27, 22,16 et 22,80. Quant aux bacilles tuberculeux, nous trouvons des chiffres compris entre 5,84 et 13,02 et ces auteurs 12,92 et 17,95. Pas de concordance, non plus, quand il s'agit de l'azote purique : pour l'*Aspergillus*,

Tableau VI. — **Analyses de cultures de B. tuberculeux R_1 de 7 semaines.**

g.	*a*	*b*	*c*	*d*
Substance humide	8,940	17,170	1,6303	1,3538
Eau	7,391	14,194	1,3477	1,1192
Substance sèche	1,549	2,976	0,2826	0,2346
			g. °/₀ de poids sec	
N total	0,1404	0,2696	9,06	0,0211*
				g. °/₀ de N tot.
N non protidique	0,0082	—	0.53	5,84
N protidique	0,1322	—	8 53	94,16
N des peptones	0,0037	—	0,24	2,63
N des amino-acides	—	—	—	—
N ammoniacal	0,0055	—	0,03	0,39
N des amides	0,0034	—	0,02	0,24
N nitrique	0,0107	—	0,07	0,76
N purique total	—	—	—	—
N P de l'acide nucl.	—	—	—	—
N P des nucléotides	—	0,0046	0,01	0,17
N P des nucléosides et des purines libres	—	0,0065	0,02	0,24

* Valeur non corrigée par addition de l'azote nitrique.

nous trouvons 5,06 et 5,07 (% de N total), vis-à-vis de 7,28, 7,72 et 8,02 ; et pour les bacilles tuberculeux des chiffres compris entre 3,42 et 3,92, cependant que Terroine et Szucs trouvent 5,92 et 5,79. Notons d'ailleurs que les valeurs correspondant aux fractions dosées de N purique des bacilles de 3 semaines (tableau III) indiquent une teneur en N purique total assez approchée de celles trouvées par les auteurs de Strasbourg.

Il nous semble que les discordances que nous venons de signaler sont dues, en premier lieu, au fait que les conditions de culture des microorganismes diffèrent d'un travail à l'autre. Si on tient compte de ce fait, les différences de composition peuvent être jugées significatives. Ainsi Terroine et Szucs cultivent le *Sterigmatocystis* sur le milieu de Czapek, milieu où la moisissure se

Tableau VII. — **Analyses de cultures de B. tuberculeux R_1 de 9 semaines.**

g.	*a*	*b*	*c*	*d*
Substance humide	3,867	14.830	1.6678	0.9096
Eau	2,945	11,290	1.2697	0.6925
Substance sèche	0,922	3,540	0,3981	0,2171
			g. °/₀ de poids sec	
N total	0,0699	0,2583	7.58	0,0163*
				g. °/₀ de N tot.
N non protidique	0,0053	—	0.57	7.58
N protidique	0,0646	—	7,01	92.42
N des peptones	0,0028	—	0.30	4,00
N des amino-acides	—	—	—	—
N ammoniacal	0,0346	—	0.05	0.66
N des amides	0.0326	—	0.03	0 37
N nitrique	0.0371	—	0 08	1.02
N purique total	—	0,0093	0.27	3 62
N P de l'acide nucl.	—	0,0080	0.23	3.10
N P des nucléotides	—	0.0339	0,01	0,15
N P des nucléosides et des purines libres	—	0,0396	0 03	0,37

* Valeur non corrigée par addition de l'azote nitrique.

développe plus lentement que sur celui de Raulin. Ce fait doit être mis en rapport avec la teneur en N non protidique que trouvent Terroine et Szucs, plus faible que celle de nos mycéliums. En effet, il est probable, comme on le verra plus loin, qu'il y a un certain parallélisme entre la vitesse de croissance d'un microorganisme et sa teneur en N acido-soluble. Signalons d'ailleurs, dès à présent, que les bacilles tuberculeux contiennent beaucoup moins de N non protidique que l'*Aspergillus*. Que les mycéliums analysés par Terroine et Szucs, quoique de 3 jours comme les nôtres, se trouvaient dans un stade de développement moins avancé, montre encore la considération des données rela-

tives à l'azote purique ; car il est probable que celui-ci diminue quand les cultures vieillissent. Si on tient compte du fait que l'azote purique des bacilles tuberculeux paraît évoluer dans le même sens ; que, d'autre part, leur teneur en N total augmente avec le temps ; on doit supposer que les cultures de bacilles analysées par TERROINE et SZUCS étaient aussi moins développées que la plupart de celles analysées par nous. D'ailleurs les don-

TABLEAU VIII. — **Analyses de cultures de B. tuberculeux de 11 semaines.**

g.	a	b	c	d
Substance humide	16,450	4,8760	1,0072	1,2182
Eau	13,711	4,0646	0,8395	1,0154
Substance sèche	2,739	0,8114	0,1677	0,2028
			g. °/₀ de poids sec	
N total	0,1998	0,0592	7,29	0,0145*
				g. °/₀ de N tot.
N non protidique	0,0149	—	0,54	7,46
N protidique	0,1849	—	6,75	92,54
N des peptones	0,0063	—	0,23	3,15
N des amino-acides	0,0031	—	(0,11)	(1,55
N ammoniacal	0,0011	—	0,04	0,57
N des amides	0,0007	—	0,02	0,35
N nitrique	0,0040	—	0,14	2,00
N purique total	—	0,0229	0,28	3,87

* Valeur non corrigée par addition de l'azote nitrique.

nées de ces auteurs se rapprochent le plus de celles des nôtres concernant les bacilles de 3 semaines.

Passons maintenant aux données de BOIVIN et Mme MESROBEANU. Elles concernent des espèces microbiennes que nous n'avons pas étudiées (1). Mais comme ce sont les seules données antérieures quant à la teneur des microorganismes en N-peptone, N-ammoniacal, N-amide, N des amino-acides et fractions de N purique, il nous semble utile de les commenter. Elles ont été établies par des méthodes plus ou moins analogues à celles décrites ci-dessus. Notons d'ailleurs qu'à la date à laquelle BOIVIN et Mme MESROBEANU ont publié leurs premiers résultats, notre

(1) Staphilocoque, *B. subtilis, proteus, micrococcus prodigiosus, B. pyocyaneus, B. coli* ; à noter que ces microbes se développent très rapidement.

travail était fini et qu'à l'apparition du mémoire d'ensemble de ces auteurs, mémoire contenant beaucoup de données ne figurant pas dans les publications antérieures, celles que nous apportons étaient déjà imprimées (Thèse Strasbourg). Nos recherches ont été indépendantes et simultanées. C'est ce qui nous fait croire que la comparaison des résultats pourrait présenter quelque intérêt.

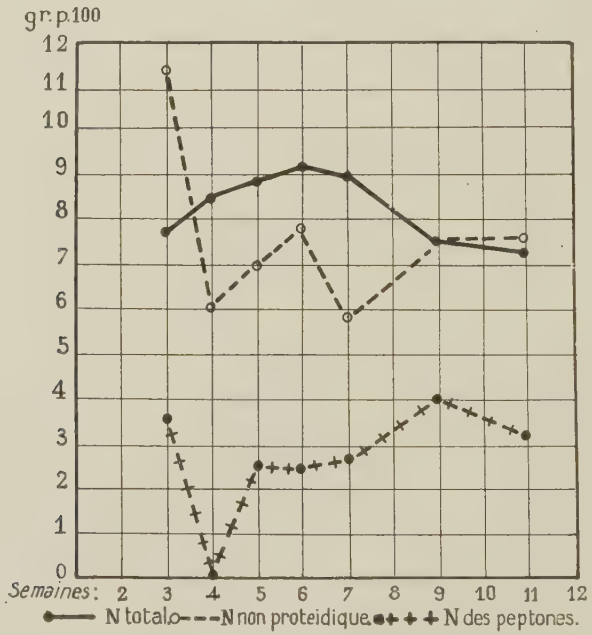


Fig. 1. — *Evolution de la constitution des bacilles tuberculeux.*
En abscisses, âges des cultures en semaines.
En ordonnées, teneurs des bacilles en azote total (en pourcentage du poids sec) et en azote non protidique, et des peptones (en pourcentages de l'azote total).

Commençons par noter que les microbes analysés par Boivin et Mme Mesrobeanu contiennent plus d'azote total que le *Sterigmatocystis Nigra* et les bacilles tuberculeux (de 11,22 à 13,92 ; à noter que ces microbes proviennent de cultures sur gélose au bouillon, non pas de cultures sur milieux synthétiques). Les données de ces auteurs concernant l'azote non protidique, quoique établies par extraction trichloracétique, sont comprises dans les mêmes limites que les nôtres (de 4,7 à 17 % de N total). Parmi

celles concernant l'azote ammoniacal, il y en a beaucoup qui sont plus grandes que celle correspondant aux bacilles de Koch. Notons que le *Sterigmatocystis* contient à peu près autant d'ammoniaque que les microbes, mais que celui-ci ne constitue qu'une fraction minime de l'azote total non protidique (2,85 et 2,17 % chez la moisissure ; chiffres compris entre 9,05 et 26,54 pour les microbes analysés par Boivin et Mme Mesrobeanu). Il paraît que les teneurs en amides des différents microorganismes analysés

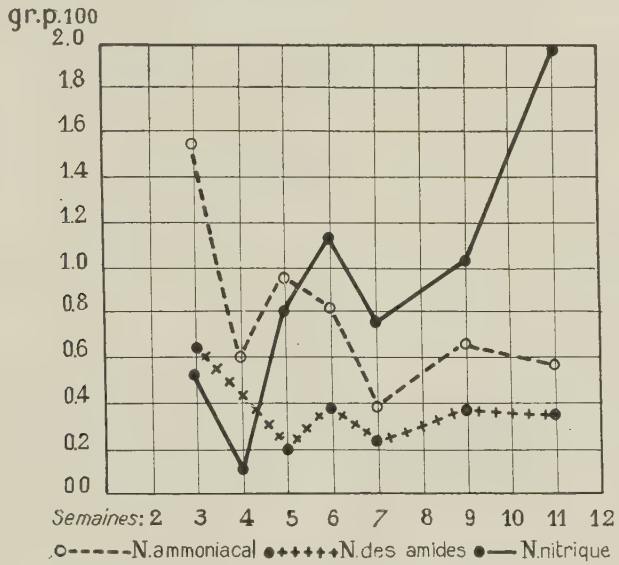


Fig. 2. — *Evolution de la constitution des bacilles tuberculeux.*
En abscisses, âges des cultures en semaines.
En ordonnées, teneurs des bacilles en N ammoniacal, N des amides et N nitrique (en pourcentages de l'azote total).

sont à peu près équivalentes : chiffres compris entre 2,80 et 6,62 % de N non protidique pour les bacilles tuberculeux ; 4,93 et 6,14 pour le *B. coli* ; 1,14 et 1,0 pour le *Sterigmatocystis* (comme pour l'ammoniaque, la teneur de la moisissure en amides apparaît équivalente à celle des autres microorganismes quand on la rapporte au poids sec ou à l'azote total). Au contraire, nous constatons des différences notables quand il s'agit de l'azote des peptones. Boivin et Mme Mesrobeanu trouvent pour le *B. coli* des teneurs en N-peptone de 6,71 et 6,61 % de N acido-soluble. Nos chiffres pour le *Sterigmatocystis* sont 27,87 et 22,76 ; et ceux

concernant les bacilles tuberculeux sont compris entre 2,14 et 52,83. Il est à noter d'ailleurs que Boivin et Mme Mesrobeanu considèrent comme N peptone l'azote aminé mis en liberté par

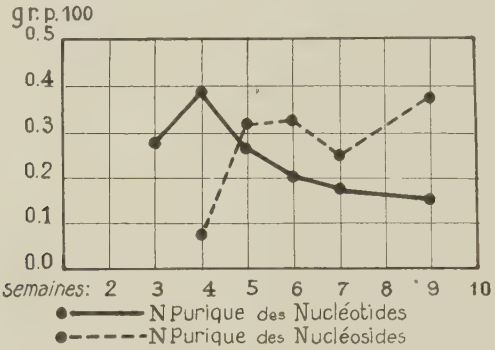


Fig. 3. — *Evolution de la constitution des bacilles tuberculeux.*
En abscisses, âges des cultures en semaines.
En ordonnées, teneurs en N purique nucléotidique et N purique nucléosidique (pourcentages de l'azote total).

hydrolyse acide de l'extrait trichloracétique et que nos chiffres correspondent à l'azote des substances non protidiques précipitables par l'acétate basique de plomb. Nous constatons encore des différences notables entre les chiffres concernant l'azote purique.

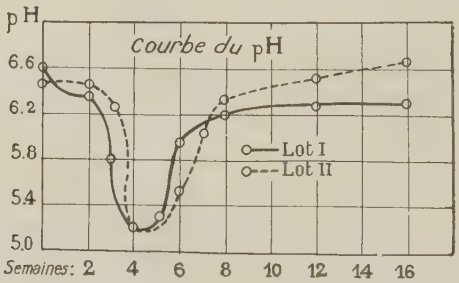


Fig. 4. — *Evolution du pH des cultures de bacilles tuberculeux humains* (d'après Johnson et collaborateurs).

Les microbes analysés par Boivin et Mme Mesrobeanu contiennent plus d'azote purique que le *Sterigmatocystis* et les bacilles tuberculeux (de 7,81 à 9,39 % de N acide soluble, vis-à-vis de 5,06 et 5,07 pour le *Sterigmatocystis* et des chiffres com-

pris entre 3,52 et 3,92 pour les bacilles tuberculeux). Il nous paraît inutile de comparer les données concernant les fractions de N purique. Comme on le verra, la répartition de l'azote purique soluble varie beaucoup durant la croissance. Notons seulement que les rapports *N purique soluble*/N purique total sont compris entre 6,2 et 27 pour les microbes analysés par Boivin et Mme Mesrobeanu, et entre 11,6 et 17,1 pour les bacilles tuberculeux.

Sur les caractères différentiels des bacilles tuberculeux et la répartition de leur azote. — Les résultats essentiels des différents dosages ont été réunis dans le tableau IX, qui montre l'évolution de la répartition de l'azote microbien. Ceux de ces

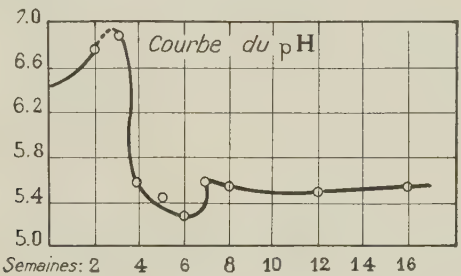


Fig. 5. — *Evolution du pH des cultures de bacilles tuberculeux aviaires* (d'après Johnson et collaborateurs).

résultats qui paraissent comporter des significations particulières ont été portés en graphiques. A côté des courbes traduisant l'évolution des constituants bacillaires (fig. 1, 2 et 3), nous donnons d'après T. B. Johnson, Mlle Renfrew et S. L. Bass l'évolution du *p*H des milieux : pour cultures de bacilles humains (fig. 4) et de bacilles aviaires (fig. 5). Enfin, nous donnons encore, d'après ces mêmes auteurs, les courbes traduisant la production d'ammoniaque de ces bacilles (fig. 6 et 7).

La différence entre les manières dont les deux races modifient la réaction du milieu est frappante. Par contre, les deux courbes d'ammoniaque ont des allures analogues. On peut en déduire : premièrement, que l'acidification du milieu par les bacilles humains n'est pas due à une moindre production d'ammoniaque de ces bacilles ; puis, en second lieu, que l'alcalinisation finale déterminée par les bacilles aviaires ne tient pas à une plus grande production de substances alcalines. En effet, les milieux n'en

contiennent pas d'autres que l'ammoniaque, et de ce fait découle la conséquence suivante : les différences de comportement entre les deux races correspondent à l'intervention de substances acides, que seuls les bacilles humains produisent de façon non transitoire et en quantités assez importantes pour déterminer l'acidification des milieux.

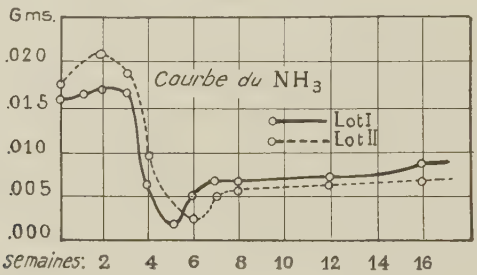


Fig. 6. — *Evolution de la teneur en* NH_3 *des milieux cultivés avec bacilles tuberculeux humains* (d'après Johnson et collaborateurs).

Reportons-nous maintenant au graphique qui donne les teneurs des bacilles que nous avons analysés en ammoniaque, azote des amides et azote nitrique (fig. 4). On y voit tout de suite que la

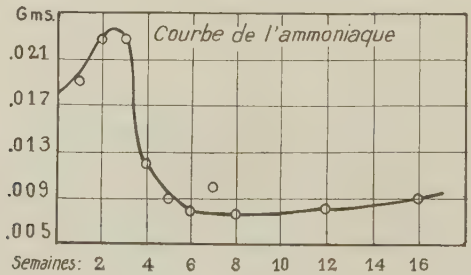


Fig. 7. — *Evolution de la teneur en* NH_3 *des milieux cultivés avec bacilles tuberculeux aviaires* (d'après Johnson et collaborateurs).

teneur des bacilles en ammoniaque diminue avec le temps, comme le fait d'ailleurs celle des milieux. Les variations de l'azote des amides sont peu importantes ; elles ne paraissent pas comporter un sens bien défini. Par contre, celles de l'azote nitrique sont considérables, le taux de celui-ci passant de 0,5 % de l'azote total à 2 %.

TABLEAU IX. — **Evolution de la répartition de l'azote des bacilles.**

g. °/₀	Age des bacilles en semaines						
	3	4	5	6	7	9	11
N total	7,69	8,39	8,90	9,17	9,06	7,58	7,29
N non protidique	11,35	6,03	36,96	7,77	5,84	7,58	7,46
N protidique	88,65	93,97	93,04	92,23	94,16	92,42	92,54
N des peptones	3,54	0,13	2,56	2,49	2,63	4,00	3,15
N des amino-acides	4,37	5,94	—	—	—	—	1,55
N ammoniacal	1,52	0,59	0,95	0,82	0,39	0,66	0,57
N des amides	0,63	0,40	0,19	0,38	0,24	0,37	0,35
N nitrique	0,51	0,10	0,78	1,10	0,76	1,02	2,00
N purique total	—	3,92	3,42	3,76	—	—	3,87
N P de l'acide nucl.	5,56	3,45	2,84	3,14	—	3,10	—
N P des nucléotides	0,28	0,39	0,27	0,21	0,17	0,15	—
N P des nucléosides et des purines libres	—	0,07	0,31	0,32	0,24	0,37	—

L'azote total est donné en pourcentages du poids des bacilles.
Tous les autres chiffres représentent des pourcentages de l'azote total.

Nous reviendrons plus loin sur la signification qu'on doit attribuer à l'ensemble de ces variations.

Notons pour l'instant que si les faits que montrent nos analyses se retrouvent chez tous les bacilles humains, l'acidification des milieux par ces acides pourrait être expliquée par la diminution de leur teneur en ammoniaque et cette production croissante d'azote nitrique. Bien entendu, une pareille explication n'aurait de valeur qu'au cas où il serait démontré que ces phénomènes ne se retrouvent pas dans les cultures de bacilles bovins et aviaires. On pourrait d'ailleurs en vérifier la validité par des essais beaucoup plus simples : des dosages d'azote nitrique dans des milieux cultivés avec les différentes variétés de bacilles. Pour que l'interprétation que nous suggérons soit acceptable, il faudrait qu'on trouvât plus d'azote nitrique dans les cultures de bacilles humains.

En attendant de pouvoir juger l'intérêt de cette interprétation à l'aide de données probantes, écartons une objection.

Certains auteurs affirment que le phénomène décrit par THEOBALD SMITH n'est constaté qu'en milieux contenant de la glycérine et, de ce chef, admettent qu'il consiste en une production, qui n'est que transitoire pour les races n'acidifiant pas, de substances acides résultant au cours du métabolisme de cet alcool. Nous ferons remarquer que, même si le fait est exact, ce que nous

n'avons pas eu l'occasion de vérifier, l'interprétation qu'on en donne n'est pas obligatoire. En effet, les relations entre le métabolisme de l'azote et celui des glucides sont assez complexes et assez mal connues pour que des points de vue analogues à celui que nous proposons puissent être rejetées *de plano*.

Nous croyons d'ailleurs que les problèmes concernant la composition des cultures microbiennes ne gagnent pas en clarté si on les considère d'un point de vue trop exclusivement *nutritioniste* et si, dans les faits qui les déterminent, on ne voit que les conséquences du métabolisme de tel aliment des microbes. Ce que nous savons de la vie des colonies microbiennes, aussi bien que les données que nous apportons, montrent qu'une culture, pour peu que son évolution soit lente, est le siège de phénomènes très complexes. Ces phénomènes, nous sommes loin de les comprendre. Il est en tout cas permis d'affirmer qu'on fait erreur en n'y voyant que l'effet de l'utilisation des substances nutritives.

Répartition de l'azote et croissance. — Il est remarquable que toutes les courbes concernant la composition des bacilles, celles correspondant à l'azote total et aux fractions puriques exceptées, présentent des minima vers la fin de la quatrième semaine (minima qu'on retrouve d'ailleurs sur les courbes correspondant à la teneur en NH_3 des milieux). Il nous semble que ce fait, qui n'est sûrement pas accidentel, doit être mis en rapport avec les variations de la vitesse de croissance des bacilles. Nous n'en avons pas donné la courbe. Il nous suffira de dire que la fin de la quatrième semaine, le moment où se placent les minima, correspond à la plus forte pente descendante de la courbe des vitesses. A ce moment, par conséquent, l'intensité de croissance est en très forte diminution. Et une semaine avant — à la fin de la troisième semaine — l'intensité de croissance atteignait sa plus grande valeur. En effet, le poids d'une culture passe du 14e jour au 21e de 1 à 7. Or pareille prolifération suppose une mobilisation importante d'azote soluble devant servir à la synthèse des protéines bacillaires, en même temps que la présence dans les corps microbiens de quantités notables de produits intermédiaires ; — mobilisation qui n'aurait plus d'objet une semaine après, quand la croissance devient beaucoup moins importante. D'où une diminution brusque de l'azote non protidique et de ses différentes fractions, diminution concomitante avec le tassement de l'évolution des cultures. Quant à l'augmentation ultérieure de l'azote soluble, nous croyons pouvoir l'expliquer en notant qu'à l'époque où se placent les minima les milieux commencent à se

troubler et à contenir des protéines. Ces faits signifient qu'avant que la culture ait cessé de se développer, des cellules déjà vieilles meurent et s'autolysent. Et ils montrent que l'augmentation pendant la cinquième semaine et les suivantes de la teneur en N soluble des microbes est l'effet de la dislocation de leurs protéines.

Cette manière de voir est confirmée par l'allure des courbes traduisant l'évolution de l'azote purique des nucléotides et des nucléosides.

Comme il a été dit plus haut, les résultats des études de Terroine et Szucs sur les corps puriques des microorganismes nous faisaient croire que l'azote purique total des bacilles diminue à mesure que les cultures vieillissent. Nos chiffres, d'ailleurs incomplets, ne nous permettent pas d'être très affirmatifs à cet égard. Ils montrent une diminution importante de la 3e à la 4e semaine, mais qui ne paraît pas s'accentuer par la suite (de 5,9 à 3,9). Encore faut-il noter que la diminution établie par Terroine et Szucs correspond à une inanition complète ou azotée des microorganismes qu'ils ont étudiés, et que cette diminution ne devient considérable, dans le premier cas, qu'après un long laps de temps, pendant que s'épuisent le milieu et les réserves (une dizaine de jours pour le *Sterigmatocystis*). Or les plus vieilles cultures que nous avons analysées n'étaient que de 11 semaines, âge qui, vu les conditions de vie des bacilles, ne peut pas être considéré comme équivalant à celui auquel la diminution devient sensible pour la moisissure.

Si, tous comptes faits, nos chiffres n'apportent que peu de renseignements sur l'évolution de l'azote purique total, il nous semble que ceux concernant ses fractions (azote purique des nucléotides et des nucléosides) sont assez instructifs.

Depuis les travaux de Parnas, on est tenté de croire que les corps puriques interviennent dans la plupart des processus métaboliques sous forme de nucléotides, que les nucléosides représentent des déchets et que l'acide nucléinique constitue une espèce de réserve d'azote purique. Nous ne dirons pas que c'est ce qui se dégage aussi de nos données analytiques, car Parnas établit que les 4/5 de l'azote purique total du muscle s'y trouvent sous forme de nucléotides solubles, et de celui des microbes nous n'en trouvons sous cette forme que de 5 à 10 % (1). Mais l'évo-

(1) Il est à noter d'ailleurs qu'un muscle n'est pas un organisme total, et que chez les vertébrés les grosses quantités de purines (les réserves peut-être) se trouvent dans d'autres organes.

lution des deux fractions de purines solubles que nous avons dosées, évolution qu'on peut suivre sur un de nos graphiques, nous paraît fournir des raisons pour considérer ce point de vue comme légitime. En effet, les courbes montrent qu'à partir de la quatrième semaine de croissance, la teneur de l'ensemble des corps microbiens en nucléotides diminue régulièrement, pendant que celle en nucléosides et purines libres augmente. Et cette double évolution est parallèle : d'une part, à une dimintion de l'intensité de croissance des cultures ; et d'autre part, à l'augmentation de la proportion des bacilles morts en train de s'autolyser ; — faits qui paraissent justifier la généralisation du point de vue de Parnas, car ils montrent que plus les cultures contiennent de nucléotides, plus les processus métaboliques dont elles sont le siège sont intenses ; et, enfin, que plus elles contiennent de nucléosides et de purines libres, plus elles comprennent de bacilles morts en train d'être digérés.

*
**

Comme on le voit, les données que nous apportons sont cohérentes. Ainsi que les faits connexes établis par d'autres chercheurs, elles tendent à montrer que la fin de la 4e semaine de développement constitue pour les cultures de bacilles tuberculeux humains un moment remarquable. A partir de ce moment et pendant quelque temps encore, leur évolution est la résultante de phénomènes opposés : mort et prolifération. La question de l'acidification des milieux, une de celles que nous avons abordées, ne saurait être résolue sans qu'on tienne compte de ce fait très important. D'autre part, si on le prend en considération, on voit que les théories de la croissance des cultures que nous avons discutées dans un paragraphe antérieur — celle des phases aussi bien que celle mathématique — ne sont que des approximations assez éloignées de la réalité des phénomènes.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS

Dans le mémoire ci-dessus, on a donné les résultats d'analyses établissant la répartition de l'azote des cultures de *Sterigmatocystis Nigra* de 3 jours, et de bacilles tuberculeux R_1 (souche humaine) respectivement de 3, 4, 5, 6, 7, 9 et 11 semaines. Ces résultats permettent de formuler les conclusions suivantes :

1. Le taux de l'azote non protidique des bacilles tuberculeux étudiés varie de 11,35 à 7,46 % d'azote total. Il est d'environ 35 % chez le *Sterigmatocystis Nigra.*

2. La répartition de l'azote soluble est différente chez les bacilles de ce qu'elle est chez la moisissure ; en effet, la plus grande partie de l'azote non protidique du *Sterigmatocystis* s'y trouve sous forme d'amino-acides, ce qui n'est pas le cas pour les bacilles, qui contiennent des quantités importantes d'autres formes d'azote non protidique.

3. Il est probable que les différences ci-dessus sont en rapports avec les caractères des cycles de croissance des cultures étudiées.

4. L'acidification des milieux qui caractérise les bacilles tuberculeux humains pourrait être déterminée par une augmentation progressive de leur teneur en acide nitrique parallèle à une diminution de leur ammoniaque, variations indiquées par nos analyses.

5. La fin de la 4e semaine de croissance des bacilles tuberculeux est marquée par des teneurs minima en la plupart des formes d'azote que nous y avons dosées.

6. Ces minima paraissent être déterminés par la conjonction à cette époque d'une forte diminution de l'intensité de croissance des bacilles et du début de la digestion des bacilles morts.

7. La teneur des bacilles en nucléotides diminue à mesure que la culture vieillit; celle en nucléosides et purines libres augmente. Ces faits font croire que l'azote purique intervient dans le métabolisme surtout sous forme de nucléotides.

8. L'azote total des bacilles diminue avec le temps, comme l'ont constaté pour d'autres microorganismes Wurmser et Montane et Terroine et Szucs.

9. Les différentes théories tendant à expliquer l'allure des courbes de croissance ne constituent que des interprétations très approximatives de l'ensemble des faits expérimentaux.

BIBLIOGRAPHIE

1. *a)* Anderson (R.-J.) : « The separations of lipoid fractions of tubercle bacilli. » (*Journ. of Biol. Chem.*, 1927, 74, 525-535.)
   b) Id. : « A study of the phosphatide fraction of tubercle bacilli. » (*Ibid.*, 1927, 74, 537-551.)
   c) Id. : « The chemistry of the lipoids of tubercle bacilli. III. Concerning phtioic acid. Preparation and properties of phtioic acid. » (*Ibid.*, 1929, 83, 169-175.)
   d) Id. : « The chemistry of the lipoids of tubercle bacilli. IV. Concerning the so called tubercle bacilli wax. Analysis of the purified wax. (*Ibid.*, 1929, 83, 505-522.)
   e) Anderson (R.-J.) et Chargaff (E.) : « The chemistry of the lipoids of tubercle bacilli. V. The analysis of the acetone soluble fat. » (*Journ. of Biol. Chem.*, 1929, 84, 703-717.)
   f) Id. : « The chemistry of the lipoids of tubercle bacilli. VI. Concerning tuberculo-stearic acid and phtioic acid from acetone soluble fat. » (*Ibid.*, 1929, 85, 77-88.)
   g) Anderson (R.-J.) : « The chemistry of the lipoids of tubercle bacilli. VII. Analysis of the soft wax from the tubercle bacilli. » (*Journ. of Biol. Chem.*, 1929, 85, 327-338.
   h) Id. : « The chemistry of lipoids of tubercle bacilli. VIII. Concerning the insaponifiable wax obtained by saponification of purified wax. (*Ibid.*, 1929, 85, 339-349.)
   i) Id. : « The chemistry of the lipoids of tubercle bacilli. IX. The occurence of hexacosanic acid in the insaponifiable wax. » (*Ibid.*, 1929, 85, 351-354.)
   j) Anderson (R.-J.) et Roberts (E.-G.) : « The chemistry of the lipoids of tubercle bacilli. X. The separation of lipoid fractions from avian tubercle bacilli. » (*Journ. of Biol. Chem.*, 1929, 85, 509-517.)
   k) Id. : « The chemistry of the lipoids of tubercle bacilli. XI. The phosphatide fraction of the avian tubercle bacilli. (*Ibid.*, 1929, 85, 519-528.
   l) Id. : « The chemistry of the lipoids of tubercle bacilli. XII. The separation of the lipoid fractions from bovine tubercle bacilli. » (*Ibid.*, 1929, 85 529-538.)
2. Bass (S.-L.) et Johnson (T.-B.) : « Some chemical changes accompanying the growth of timothy bacilli on Long's synthetic medium. » (*Am. Rev. of Tuberc.*, 1929, 20, 122-127.)
3. *a)* Boivin (A.) : *Contribution à l'étude biochimique des corps puriques et pyrimidiques de l'organisme.* 1 vol. de 146 pages, imprimerie Declume, Lons-le-Saunier, 1931.
   b) Boivin (A.) et Mesrobeanu (Lydia) : « Contribution à l'étude de la composition chimique de la cellule bactérienne. Substances azotées et phosphorées « acido-solubles » (Techniques et premiers résultats). » (*Arch. roum. de Pathol. expér.*, 1934, 7, 95-133.)
4. Bonnet (R.) : « Evolution de l'azote au cours de la germination. » (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1929, 11, 1025-1061.)
5. Buchanan (E.-R.) : *Growth curves of bacteria. In the Newer Knowledge of Bacteriology and Immunology.* Edité par E.-O. Jordan et I.-S. Falk, University Press, Chicago.
6. Johnson (T.-B.) et Coghill (R.-D.) : « The chemical analysis of the tubercle bacillus. » (*Am. Rev. of Tuberc.*, 1927, 15, 494-499.)
7. Johnson (T.-B.) et Renfrew (Alice-G.) : « Some chemical changes accom-

panying the growth of tubercle bacilli on Long's synthetic medium. » (*Am. Rev. of Tuberc.*, 1928, 17, 508-519.)

8. Id. : « The chemical study of bacteria. XXIII. Comparative yields of water soluble protein and carbohydrate from tubercle bacilli from various sources. » (*Ibid.*, 1928, 18, 505-512.)
9. Kolthoff (J.-M.) : *Die Massanalyse.* Zweiter Teil. Die Praxis der Massanalyse. 1 vol. de x+512 pages, 18 figures. Springer, Berlin, 1928.
10. Kruger (M.) et Schmid (J.) : « Zur Bestimmung der Harnsäure und Purinbasen im menschlichen Harn. » (*Ztschrf. für Physiol. Chem.*, 1905, 45, 1-13.)
11. Parnas (J.-K.) : « Ueber die Ammoniakbildung im Muskel und ihren Zusammenhang mit Funktion und Zustandsänderung. VI. Mitteilung. Der Zusammenhang der Ammoniakbildung mit der Umwandlung des Adeninnucleotid zu Inosinsäure. » (*Biochem. Ztschrf.*, 1929, 206, 16-38).
12. Renfrew (Alice-G.) : « The chemical study of bacteria. XXIX. Aproximate analysis of a deffated residue of avian tubercle bacilli. » (*Journ. of Biol. Chem.*, 1929, 83, 569-577.)
13. Renfrew (Alice-G.), Bass (S.-L.) et Johnson (T.-B.) : « Some chemical changes accompanying the growth of avian tubercle bacilli on Long's synthetic medium. » (*Am. Rev. of Tuberc.*, 1929, 20, 114-121.)
14. Renfrew (Alice-G.), Haring (Katherine-M.) et Johson (T.-B.) : « Some chemical changes accompanying the growth of bovine tubercle bacilli on Long's synthetic medium. » (*Am. Rev. of Tuberc.*, 1930, 22, 116-120.)
15. Robertson : *Journ. of Physiol.*, 1922, 56, 404. D'après Buchanan [11].
16. Rona (P.) : *Praktikum der Physiologischen Chemie.* Zweiter Teil. Blut, Harn von P. Rona et H. Kleinemann. 1 vol. de xx+764 pages, 141 figures. Springer, Berlin, 1929.
17. Slyke (D.-D. van) : « *Die gasometrische Bestimmung von primären aliphatischen Aminostickstoff und ihre Anwendung auf physiologischem Gebiete.* In Handbuch der Biologischen Arbeitsmethoden herausgegeben von E. Abderhalden, Abt. I., Teil 7. Urban et Schwarzenberg, Vienne.
18. Smith (Th.) : *Journ. Med. Res.*, 1905, 13, 253 ; 1905, 13, 405. D'après A.-S. Griffith [19].
19. Terroine (E.-F.), Wurmser (R.) et Montané (J.) : « Influence de la constitution des milieux nutritifs sur la composition de l'*Aspergillus Niger.* » (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1922, 4, 623-643.)
20. Terroine (E.-F.) et Lobstein (J.-E.) : « La formation des substances grasses et lipoïdiques. I. Influence de la nature des éléments hydrocarbonés sur la teneur en substances grasses du bacille tuberculeux et les caractères de ces substances. (*Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1923, 5, 182-199.)
21. *a)* Terroine (E.-F.) et Szucs (Fr.) : « Le rapport des corps puriques aux protides chez les microorganismes. » (*Ann. de Physiol. et Physico-Chim.-Biol.*, 1930, 6, 129-149.)
    b) Id. : « Influence de la température sur les taux des protides et des corps puriques chez les microorganismes. » (*Ibid.*, 1930, 6, 150-156.)
    c) Id. : « Influence de l'inanition (inanition complète et inanition azotée) sur le taux des protides et des corps puriques chez les microorganismes. » (*Ibid.*, 1930, 6, 157-177.)
22. Voit (E.) : « Ein Beitrag zur Bestimmung des Eiweiss-Stickstoffes. » (*Ztschrf. für Biol.*, 1926, 84, 153-168.)
23. Yovanovitch (A.) : « Microdosage de l'ammoniaque. Application au dosage de l'ammoniaque urinaire. » (*Bull. Soc. Chim. Biol.* 1925, 7, 665-672.)

ÉTUDE HISTO-PATHOLOGIQUE D'UN SCHWANNOME LOCALISÉ SUR LE TRAJET D'UN RAMEAU DU NERF FACIAL [1]

par

A. TUPA
Professeur à la Faculté de Médecine, Jassy.

(Travail du Laboratoire de Médecine expérimentale, Institut « Cantacuzène », Bucarest)

La tumeur que nous nous proposons d'analyser ici s'est développée dans la région parotidienne gauche, d'une façon insidieuse, sans douleur et sans troubles d'aucune sorte, pendant plusieurs années (six ans). Elle était peu visible, se révélant simplement par une légère proéminence, longtemps stationnaire. Cette tuméfaction commençant à s'accroître d'une manière plus prononcée et rapide dans les derniers mois, décide le porteur de se soumettre à une opération consistant dans l'excision d'une petite tumeur ovoïde, ayant le volume d'un œuf de colombe. Sa surface était lisse, légèrement lobulée, translucide, d'aspect graisseux et d'une coloration blanc jaunâtre. Elle était placée entre le lobe antérieur de la parotide qui la recouvrait à l'extérieur et le muscle masséter sur lequel elle reposait, étant séparée d'eux par une capsule conjonctive fibreuse, distincte. Cette capsule n'adhérait aux organes voisins que par quelques minces brides d'apparence fibreuse, qui ont été coupées pour faciliter l'enlèvement de la tumeur. Elle se détachait aussi très facilement de la surface de la tumeur, sauf en un point qui correspondait approximativement à un de ses pôles.

Après l'excision de la tumeur, on remarqua une légère parèse de quelques faisceaux musculaires appartenant à l'orbiculaire de la paupière gauche et de certains muscles de la partie gauche de

(1) Reçu le 18 octobre 1935.

la face, dont les traits étaient devenus plus effacés, surtout pendant les mouvements exagérés de la mimique.

Cette parèse faciale gauche persiste avec une légère amélioration, même après plus d'un mois depuis l'opération.

La tumeur entière a été fixée dans le formol picro-acétique de Bouin, où elle gagna instantanément le fond du vase, contrairement à notre attente justifiée par la ressemblance avec un lobule graisseux (lipome), fréquent dans cette région.

Les sections faites à la congélation ou après inclusion à la paraffine (coupe de 5-7 μ d'épaisseur) ont été colorées à l'hématoxyline-éosine, à l'hématoxyline Weigert - Van Gieson et à l'hématoxyline phosphotungstique de Mallory, que nous recommandons particulièrement à cause de l'abondance des détails structuraux, cellulaires et intercellulaires, qu'elle rend très clairs et évidents par une métachromasie d'une grande richesse.

Nous ne nous sommes pas servis, dans notre étude, des méthodes d'imprégnation argentique à cause de la fixation préalable de la tumeur dans le fixateur de Bouin, impropre à ces méthodes. C'est ce qui nous a empêché de pouvoir étudier, que très incomplètement, les éléments nerveux de la tumeur.

Nous avons pourtant obtenu une très bonne fixation des cytoplasmas et des noyaux qui, suivie de l'excellente coloration par l'hématoxyline de Mallory, nous a permis d'avoir de très bonnes représentations des fibres nerveuses myéliniques seulement, et de suivre facilement leur transformation et leur parcours au milieu des autres éléments du tissu morbide.

Cette fixation a été d'autant plus précieuse qu'elle nous a conservé les rapports réciproques des éléments constitutifs de la tumeur, mieux que la simple fixation formolée suivie d'une des nombreuses méthodes d'imprégnation argentique connues, où les rétractions des divers protoplasmas sont très prononcées et très inégales.

Reste une seule lacune importante dans l'étude de cette tumeur : c'est l'analyse du comportement des fibres nerveuses amyéliniques par rapport aux nouvelles conditions créées par la prolifération néoplasique. Nous regrettons d'avoir été dans l'impossibilité de la faire.

Nous avons examiné séparément *le sac fibreux qui enveloppait la tumeur* et qui a été détaché d'elle pendant les manipulations opératoires, et *la tumeur elle-même.*

Voici ce que nous avons constaté à l'examen microscopique :

Le sac fibreux (capsule) est constitué par un feutrage serré de

fibres collagènes, groupées en deux couches distinctes. *L'une* externe, très dense, est constituée par un enchevêtrement de gros faisceaux collagènes se disposant en lames ondulées, entre lesquelles siègent de rares fibroblastes aplatis. Cette première couche lamellaire ne se laisse dissocier par aucune infiltration interstitielle œdémateuse, de même que par aucune infiltration cellulaire

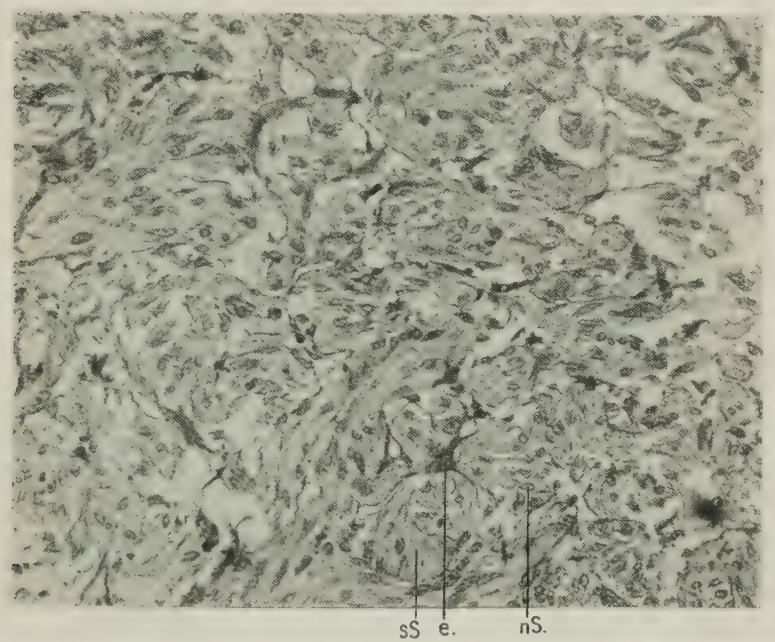


Fig. 1. — Travées du syncytium de Schwann s'entrecroisant dans tous les sens. (Microphoto Zeiss-Phocus. Obj. 20.)

de nature inflammatoire ou néoplasique. Elle forme autour de la tumeur une enveloppe continue et d'épaisseur égale. Cette couche se continue du côté de sa face interne, tournée vers la tumeur, par une *autre couche fibreuse* ayant aussi une structure lamellaire, mais constituée par des faisceaux collagènes sensiblement plus minces et logeant des noyaux fibroblastiques beaucoup plus nombreux. Les lamelles fibreuses de cette couche se laissent facilement séparer par une substance liquide œdémateuse irrégulièrement répandue dans ses interstices. Cette dernières couche de la

capsule, d'épaisseur inégale, est pénétrée par places par le tissu propre de la tumeur.

La tumeur proprement dite est constituée, dans son ensemble, de deux parties qui se distinguent nettement même à l'œil nu :

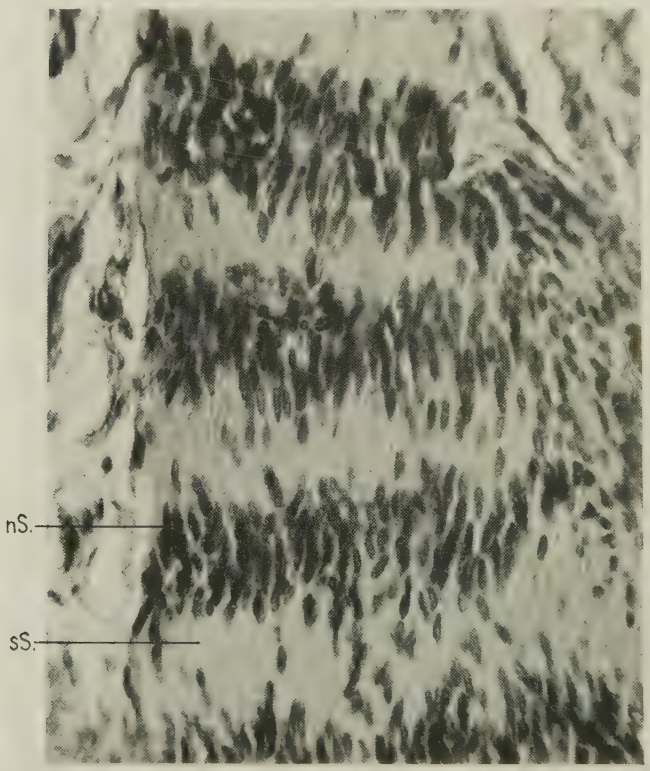


Fig. 2. — Section longitudinale d'une travée syncytiale de Schwann avec noyaux disposés « *en palissade* ». (Microphoto Zeiss-Phocus. Obj. 20.)

la partie centrale plus dense, constituant le noyau de la tumeur, est enveloppée par une *écorce* assez épaisse, beaucoup plus molle et translucide.

La partie centrale dense est composée d'un tissu très riche en noyaux ovales et aplatis qui plongent dans un cytoplasma d'aspect

spongieux, dépourvu de limites cellulaires (syncytium). Ce tissu se dispose en bandes ou travées, variables comme dimensions et limitées incomplètement par des faisceaux de fibres collagènes. Les bandes se juxtaposent et s'entrecroisent dans tous les sens, constituant un feutrage très dense et serré donnant, sur la coupe, un aspect « natté ». Les noyaux qui appartiennent à la même bande sont tous orientés dans la direction de sa longueur ; le plus souvent ils sont répandus irrégulièrement ; d'autres fois ils forment des rangées transversales qui se succèdent régulièrement

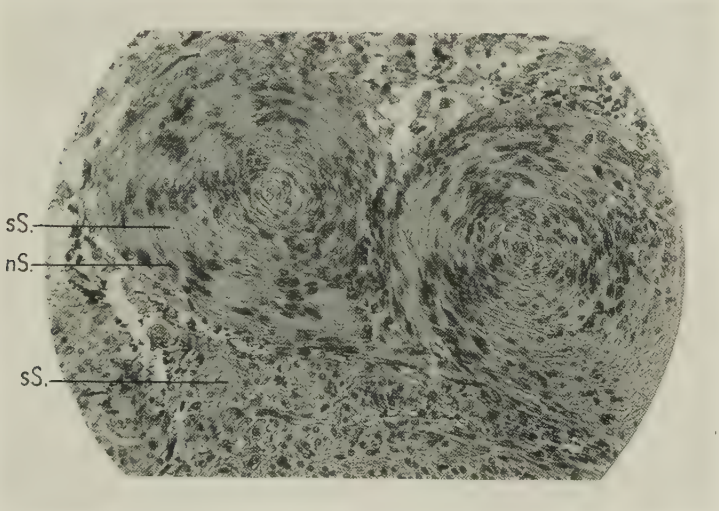


Fig. 3. — Deux bandes syncytiales de Schwann, roulées « en tourbillon ». (Microphoto Zeiss-Phocus. Obj. 20.)

sur un certain trajet de la bande : c'est la disposition nucléaire « en palissade », très caractéristique.

Le nombre des noyaux contenus dans les bandes syncytiales est très variable selon les régions ; dans certaines, leur nombre est très abondant et leur disposition à la file constitue de véritables chaînons nucléaires ; dans d'autres, leur nombre est beaucoup diminué et la substance cytoplasmique paraît, de ce chef, plus abondante. Cette distribution inégale des noyaux dans la masse cytoplasmique du syncytium, explique les variations tinctoriales des différentes régions d'une même coupe histologique.

Un caractère particulier de ces bandes est leur tendance à se

disposer concentriquement autour d'une formation histologique centrale (petit capillaire ou neurite), engendrant ainsi des tourbillons, très variables comme forme et dimension. Les noyaux s'y disposent aussi en lignes concentriques, plus ou moins régulières, pouvant figurer, par endroits, la disposition « en palissade » rencontrée dans les bandes longitudinales.

Les microphotographies (fig. 3) et le dessin (pl. I, fig. 2) que nous annexons à ce travail reproduisent une pareille disposition « en tourbillon » des bandes syncytiales. On observe au centre de cette formation (pl. I, fig. 2) un petit espace circulaire, vide, qui très probablement a été occupé par un neurite myélinique, dégénéré actuellement, à moins qu'il ne soit pas habité par un neurite amyélinique qui n'est pas mis en évidence par les méthodes histologiques que nous avons utilisées. Mais, si on examine avec attention la préparation, on constate, à la périphérie de la formation feuilletée et tourbillonnante, la présence de nombreux neurites myéliniques, nettement représentés en section transversale par des anneaux intensément colorés en rouge violet, entourés d'un cytoplasma syncytial beaucoup moins abondant. Il se forme ainsi des petits groupes isolés qui représentent, au fond, les stades initiaux des grands tourbillons, plus évolués.

Toutes ces images « en tourbillon » rappellent celles de certains corpuscules sensitifs encapsulés (type Pacini). Elles peuvent être isolées ou associées par groupes, au milieu d'autres bandes à trajet plus ou moins ondulé, qui s'entrecroisent dans tous les sens (fig. 4). Ces bandes constituent la plus grande partie du noyau de la tumeur.

Les bandes syncytiales formant le centre de la tumeur se pressent étroitement les unes contre les autres, sans qu'il y ait interposition d'espaces interstitiels remplis de substance fondamentale amorphe ou d'un autre tissu plus lâche, édifiant ainsi un tissu compact d'une structure presque homogène.

Le tissu conjonctif est peu développé dans cette partie de la tumeur. Il y est représenté par quelques minces faisceaux de fibres collagènes qui limitent incomplètement les bandes syncytiales ou bien les traversent quelquefois.

Les vaisseaux sont relativement rares, de petit calibre, et entourés d'une adventice distincte, qui les isole nettement du tissu néoplasique. On peut dire même que l'adventice vasculaire est plus développée qu'à l'état normal et leur constitue, par endroits, une sorte d'enveloppe scléreuse.

Les mitoses nucléaires sont généralement rares, ainsi que les

noyaux hypertrophiés et hyperchromatiques à contour irrégulier ou lobulé.

En examinant des sections transversales faites en série, on

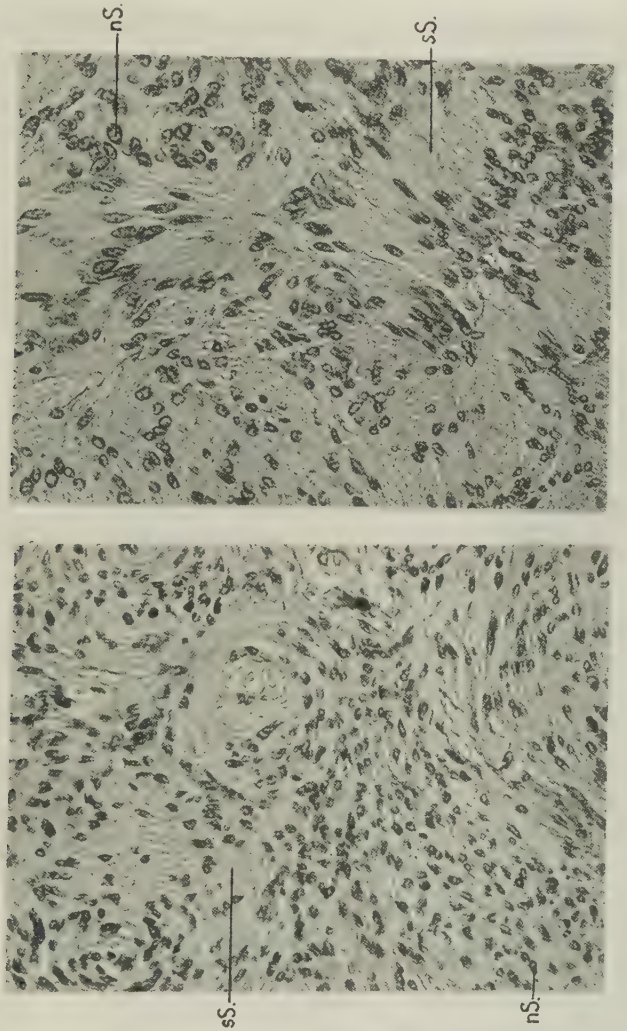


Fig. 4. — Coupe intéressant le tissu dense du centre de la tumeur; des petites formations « en tourbillon », avoisinant des bandes syncytiales coupées soit transversalement, soit longitudinalement ou obliquement. (Microphoto Zeiss-Phocus. Obj. 20.)

remarque que le noyau condensé de la tumeur ne garde pas constamment sa place centrale, mais qu'il se déplace vers la périphérie à mesure qu'on approche d'une des extrémités (celle qui adhérait au filet nerveux du facial).

En outre, nous avons trouvé enclavés au milieu de la tumeur, sans toutefois faire corps avec elle, un ou deux petits troncs nerveux, d'apparence normale ou presque, qui se perdaient plus loin dans la masse de la tumeur.

La partie périphérique de la tumeur, de moindre consistance que le centre, est un tissu lâche, d'apparence gélatineuse. Elle se relie à la partie précédente, tantôt sans ligne de démarcation, par une zone de transition où les bandes syncytiales néoplasiques du centre et le tissu conjonctif œdématié de la périphérie se pénètrent réciproquement, tantôt cette zone intermédiaire manque ou est si peu développée que les deux parties constituantes de la tumeur, — centrale et périphérique, — différentes par leur structure, semblent se juxtaposer seulement, sans qu'il y ait continuité de l'une à l'autre. Cette partie de la tumeur n'a pas une structure homogène dans toute son étendue, mais diffère d'une région à l'autre par le contenu en faisceaux collagènes, par la quantité et la qualité de la substance fondamentale interstitielle, et par le développement et la disposition des bandes syncytiales qui la parcourent. Dans certaines zones prédomine un tissu riche en cellules ramifiées et anastomosées, formant un réseau à mailles élargies, remplies d'une substance mucoïde abondante. Dans d'autres zones, — celles qui approchent la périphérie de la tumeur, — ce sont les fibres collagènes qui sont le mieux représentées et y forment de nombreux faisceaux qui se continuent insensiblement par la couche interne du sac fibreux, d'un côté, ou se dispersent dans le tissu lâche mucoïde de la tumeur, d'un autre. Ailleurs, cette couche périphérique de la tumeur est parsemée, de distance en distance, de petits foyers constitués par un entrecroisement de bandes syncytiales très déliées et identiques à celles qui forment la partie centrale. Celles-ci se perdent en s'effilochant dans le tissu conjonctif mucoïde environnant (pl. II, fig. 3). Les fibres collagènes contribuent aussi, dans une large mesure, à la constitution de ces foyers et souvent ce sont elles qui prédominent. Enfin, on peut rencontrer dans cette région de la tumeur — ébauchées ou complètement édifiées — des petites formations « en tourbillon », reliées par de minces anastomoses à la partie centrale.

Rappelons ici que nous avons constaté, sur les préparations histologiques, la présence de quelques petits filets nerveux, appliqués étroitement contre la surface de la tumeur (à l'intérieur de la capsule).

⁂

Il résulte de la description qui précède qu'il s'agit d'une tumeur localisée et encapsulée en connexion étroite avec un rameau du nerf facial. Son extirpation, causant une légère parèse de certains groupes musculaires innervés par ce nerf, semble confirmer le fait.

D'après ses rapports topographiques et d'après ses caractères, cette tumeur appartient au groupe de celles qui se développent aux dépens des éléments du tissu nerveux, en espèce des nerfs périphériques, décrites par les auteurs sous différents noms : névromes ou gliomes périphériques (Lhermitte et Leroux), fibrogliomes ou neurofibromes (Recklinghausen), neurinomes (Verocay). Masson propose le nom de « schwannome » en raison de leur structure histologique.

En effet, l'élément premier constituant le tissu de cette tumeur est le syncytium cytoplasmique que nous venons de décrire et qui n'est autre que le syncytium de Schwann des nerfs périphériques, énormément hypertrophié. A l'état normal, ce syncytium enveloppe les neurites d'une gaine cytoplasmique extrêmement mince, possédant des noyaux distribués à des distances égales. Les lames cytoplasmiques du syncytium de Schwann normal peuvent être comparées, au point de vue de leur minceur, aux lames cytoplasmiques des endothéliums vasculaires ou des mésothéliums. Elles sont, comme ces dernières, presque invisibles sur les préparations histologiques usuelles, sauf dans la zone périnucléaire. Si la gaine syncytiale de Schwann est un voile cytoplasmique très fin, visible à l'état normal uniquement au moyen des techniques histologiques spéciales, par contre, à l'état pathologique, elle s'hypertrophie et devient reconnaissable, même avec les méthodes usuelles, sous la forme d'une couche cytoplasmique d'une certaine épaisseur, qui s'interpose entre le neurite et le tissu conjonctif de l'endonèvre.

Dans notre cas, en particulier, nous avons pu suivre de très près toutes les transformations subies par la gaine névroglique de Schwann, depuis le début de son hypertrophie autour des neurites encore groupés dans un tronc nerveux, jusqu'à sa prolifération énorme, au milieu de la tumeur même.

Pour mettre cette évolution en évidence, analysons, sur nos préparations histologiques, une série de champs microscopiques qui peuvent être interprétés comme représentant des stades suc-

cessifs dans l'évolution du processus histogénétique de la tumeur, et commençons par l'étude d'un petit filet nerveux qu'on trouve enclavé dans la tumeur, sans toutefois faire corps avec elle.

La figure 5 et la planche II, figure 4, reproduisent fidèlement la structure d'un pareil filet nerveux, sectionné transversalement. On y voit que chaque neurite myélinique est représenté par une formation en anneau colorée vivement en villet-rouge par l'hé-

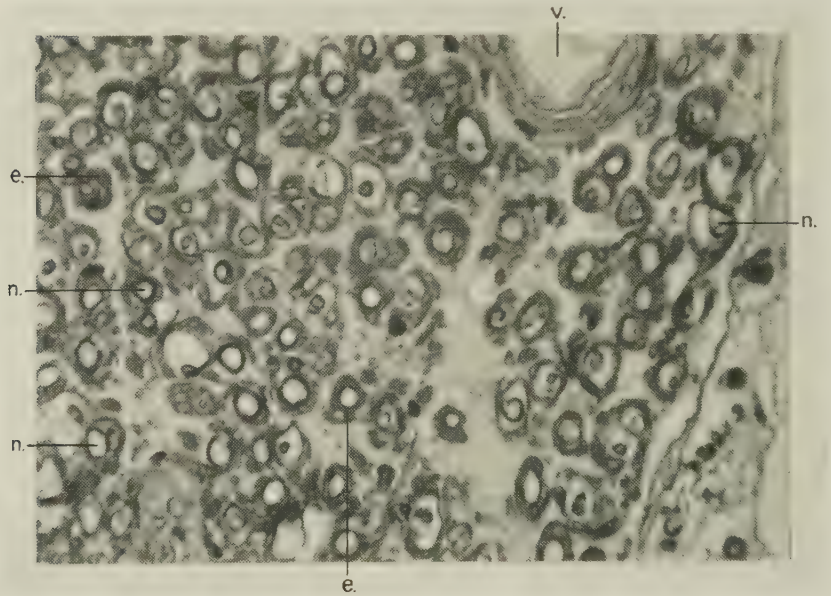


Fig. 5. — Coupe transversale d'un petit tronc nerveux enclavé dans la tumeur, ne faisant pas corps avec elle; autour de chaque neurite, une zone grise, représentant la sclérose périneuritique. (Microphoto Zeiss-Phocus. Obj. 40.)

matoxyline de Mallory. Cet anneau, plus ou moins régulier, peut être simple et unique ou dissocié en lamelles concentriques réunies diversement entre elles. Il représente la gaine de myéline intacte ou dissociée en ses éléments constitutifs.

Le centre de cette formation annulaire est rempli par une substance homogène, présentant souvent des rétractions et adhérant partiellement à un segment de l'anneau : c'est le neuroplasma du cylindraxe. Sa coloration rosâtre, tirant légèrement sur le violet, témoigne d'une transformation de sa constitution

qui, à un degré plus avancé, caractérise l'état connu sous la dénomination « d'hyperchromie » du cylindraxe.

Ces deux formations — gaine de myéline et cylindraxe — constituent le neurite. Autour de chaque neurite, on observe une couche épaisse, teintée de gris sur les microphotographies (fig. 5) ou de rouge sur les préparations (pl. II, fig. 4), et qui n'est autre que le tissu collagène de l'endonèvre très hyperplasié. Il forme, à cet endroit, une véritable sclérose endoneurale, limitée seulement au pourtour du neurite. Cette sclérose n'inclut pas tous les neurites du nerf dans une gangue fibreuse commune. Au contraire, chaque neurite entouré de sa coque scléreuse est bien individualisé dans le tronc nerveux et demeure éloigné de ses voisins par des espaces remplis d'un tissu très lâche riche en substance fondamentale.

La gaine syncytiale de Schwann conserve sa minceur excessive, normale, et n'est apparente qu'autour des noyaux. Pour qu'elle soit mise en évidence dans toute son étendue, il aurait fallu employer des techniques spéciales, adéquates à ce but et impropres aux recherches courantes d'histologie pathologique.

En somme, le petit tronc nerveux inclus dans la tumeur possède une structure histologique très voisine de la normale, si ce n'était la sclérose périneuritique et l'écartement des fibres nerveuses par l'infiltration œdémateuse du tissu conjonctif de l'endonèvre.

A un stade plus avancé de l'évolution métamorphique du petit tronc nerveux, les neurites entourés de leur gaine scléreuse sont plus écartés entre eux et constituent chacun un centre autour duquel s'organise, aux dépens de la gaine de Schwann, des formations structurales individualisées (fig. 6, et pl. III, fig. 5).

Une pareille formation est composée d'un neurite, placé en son centre, d'une gaine conjonctive dissociée en faisceaux, à la périphérie, et d'une couche cytoplasmique syncytiale bien évidente, interposée entre les précédentes. Dans son ensemble, cette formation représente une fibre nerveuse modifiée dans sa structure, dont la gaine névroglique de Schwann s'est hypertrophiée de façon à prédominer sur le neurite, et dont la gaine conjonctive endoneurale a été dissociée et poussée vers la périphérie. Les neurites gardent les mêmes caractères morphologiques et tinctoriaux que ceux décrits plus haut. La gaine névroglique de Schwann est un cytoplasma abondant, d'aspect aréolaire, qui forme de longues travées syncytiales. *Ce cytoplasma montre une*

différenciation fibrillaire dans le sens longitudinal des travées et contient de nombreux noyaux nucléolés, peu chromatiques et allongés dans le même sens que la fibrillation. Sa coloration rose faiblement violacée, sur nos préparations colorées par l'hématoxyline de Mallory, contraste avec le rouge violet foncé du neurite, d'une part, et avec le rouge orange du collagène, d'autre part. Quant à la gaine conjonctive endo-neurale, disloquée en

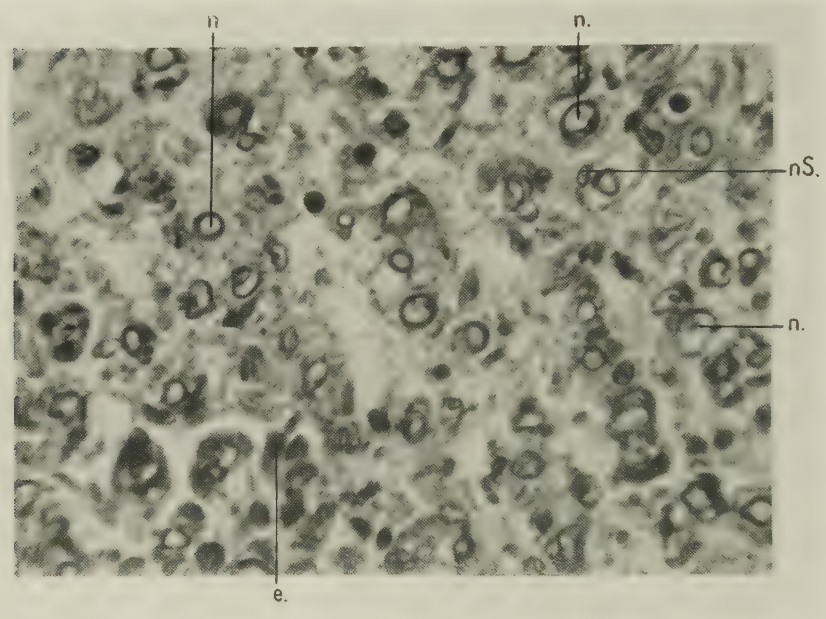


Fig. 6. — Coupe transversale d'un petit tronc nerveux enclavé dans la tumeur, mais ne faisant pas corps avec elle; le syncytium de Schwann se révèle sous forme d'une gaine plus ou moins épaisse intercalée entre le neurite et la gangue scléreuse périneuritique. (Microphoto Zeiss-Phocus. Obj. 40.)

nombreux faisceaux et éloignée du neurite par l'hypertrophie du syncytium de Schwann, elle indique la limite du territoire appartenant à chaque unité anatomique constitutive du nerf. La présence des faisceaux collagènes à l'intérieur des travées de Schwann s'explique par leur incorporation secondaire, consécutive à la poussée de nombreux prolongements névrogliques latéraux qui franchissent la barrière des fibres collagènes et s'appli-

quent ensuite sur la face opposée de ces fibres, leur donnant l'apparenc d'être incluses dans la masse cytoplasmique de ces travées.

Somme toute, ce stade évolutif des transformations subies par le nerf est caractérisé par l'hypertrophie de la gaine syncytiale de Schwann qui devient apparente entre le neurite et la gaine conjonctive disloquée et repoussée par la croissance progressive de la

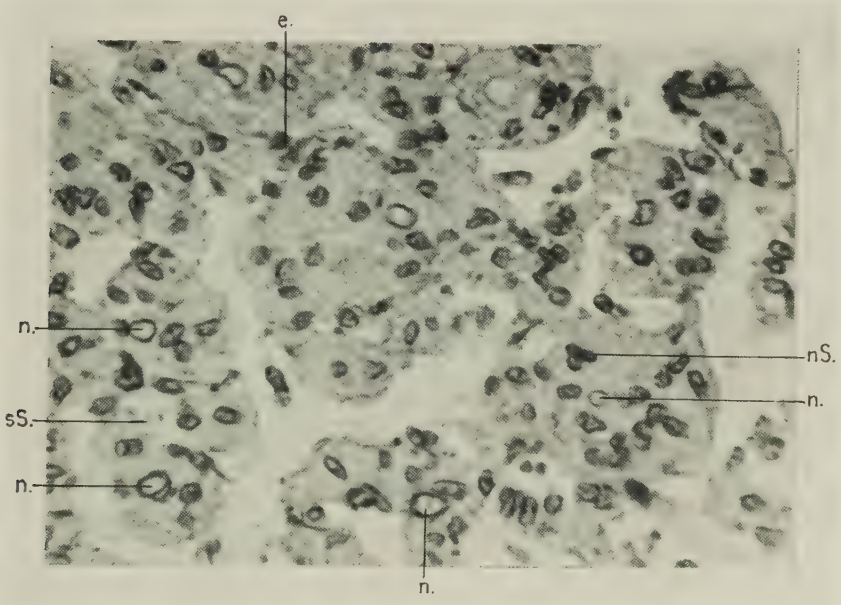


Fig. 7. — Section transversale des travées névrogliques de Schwann développées autour des neurites qui ont quitté le petit tronc nerveux, s'incorporant à la tumeur. Les travées spongieuses et anastomotiques sont constituées par un neurite myélinisé, placé au centre d'une couche épaisse hypertrophique de cytoplasma syncytial de Schwann ; cette dernière est vaguement limitée par quelques rares faisceaux collagènes. (Microphoto Zeiss-Phocus. Obj. 40.)

névroglie. A ce stade, le nerf, quoique encore enclavé dans la tumeur, demeure séparé d'elle par le périnèvre conjonctif.

Un stade encore plus avancé dans l'évolution du processus néoplasique est représenté par les fibres nerveuses ainsi transformées, qui abandonnent le tronc du nerf et s'incorporent à la structure intime du tissu de la tumeur (fig. 7, et pl. III, fig. 6).

Il faut remarquer que les éléments qui constituent le tissu néoplasique arrivé à ce stade du développement, sont toujours identiques à ceux rencontrés dans le petit tronc nerveux précédemment décrit, quoique légèrement modifiés dans leur structure et leur morphologie au cours de l'évolution.

On y trouve premièrement des neurites avec leur gaine de myéline, figurée toujours sous forme d'anneau vivement coloré en

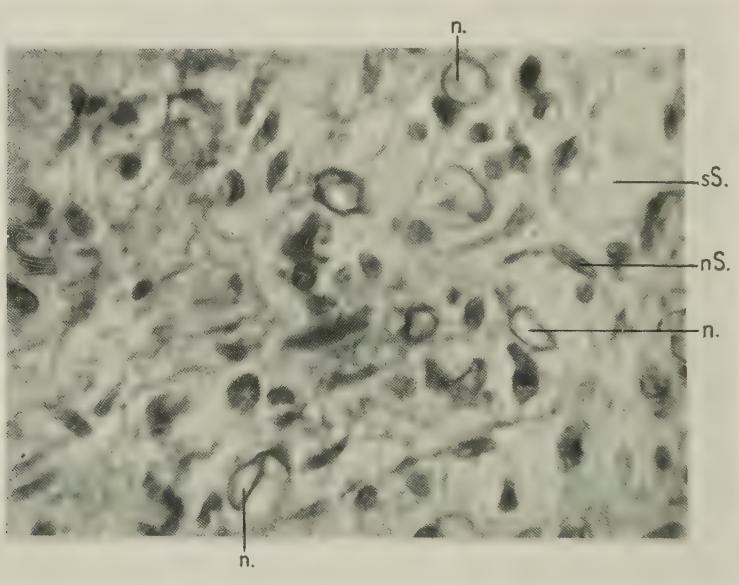


Fig. 8. — Coupe transversale du tissu formant le centre de la tumeur, contenant des neurites myélinisés, en voie de dégénérescence. (Microphoto Zeiss-Phocus. Obj. 20.)

rouge violet. Autour d'eux, leur adhérant intimement, s'étend le cytoplasma du syncytium névroglique, d'aspect aérolaire, avec de nombreux noyaux dispersés irrégulièrement dans sa masse. Ce cytoplasma schwannien constitue des travées spongieuses qui s'anastomosent par les prolongements qu'elles s'envoient réciproquement, engendrant ainsi des blocs cytoplasmiques de plus en plus volumineux.

Enfin, les faisceaux collagènes de la gaine conjonctive endoneurale, encore plus disloqués et éparpillés par le développement

exagéré des travées syncytiales, s'étalent à la périphérie de ces travées ou restent emprisonnés parmi elles. Quantitativement, le développement du collagène est en disproportion avec l'énorme croissance de la masse névroglique ; il semble même que le tissu conjonctif, non seulement n'a pas été incité à proliférer dans la même proportion que la névroglie, mais au contraire qu'il a une tendance à diminuer.

Dans les régions de la tumeur où le tissu néoplasique paraît plus évolué encore, les travées névrogliques forment des masses syncytiales énormes autour des neurites myéliniques qui, à leur tour, manifestent des changements évidents de structure (fig. 8, et pl. IV, fig. 7).

Ces neurites sont hypertrophiés et présentent un cylindraxe achromatique très gonflé, entouré d'une gaine de myéline très mince et d'une colorabilité moins égale et progressivement décroissante. Le changement du rapport qui doit exister normalement entre l'épaisseur de la gaine de myéline et celle du cylindraxe qu'elle enveloppe, indique une altération bien avancée du neurite.

Au cours de l'examen de diverses coupes, nous avons rencontré souvent des formations irrégulièrement circulaires, très faiblement colorées, ressemblant beaucoup aux anneaux représentant la section transversale des gaines de myéline et qui peuvent être rattachées à ces dernières par des formes de transitions intermédiaires. Les microphotographies prises sur des préparations où les neurites sont intéressés longitudinalement révèlent indubitablement des gonflements irréguliers sur leur trajet et expliquent cette grande variation des images en anneau représentant leur coupe transversale (pl. V, fig. 9, 10, 11).

En rapport direct avec les neurites ainsi modifiés, s'étendent les masses énormes du syncytium névroglique de Schwann. Ce syncytium agrandi par la prolifération, subit, en outre, un gonflement de son cytoplasma, évidencié par l'élargissement des mailles de son réseau plasmatique, ainsi que par l'agrandissement de l'espace inter-nucléaire qui cause l'impression erronée de la diminution numérique nucléaire. Les noyaux eux-mêmes sont plus volumineux et moins chromatiques. Quelques-uns montrent pourtant des formes monstrueuses, lobulées et hyperchromatiques, témoignage d'une déviation survenue dans leur évolution. Ces dernières formes sont relativement rares et ne comportent aucun pronostic fâcheux.

Enfin, à la périphérie des masses syncytiales névrogliques ou disséminées parmi leurs travées, indiquant vaguement leurs limites, se trouvent les faisceaux collagènes très déliés et écartés les uns des autres.

Nous annexons à ce travail quelques figures microscopiques

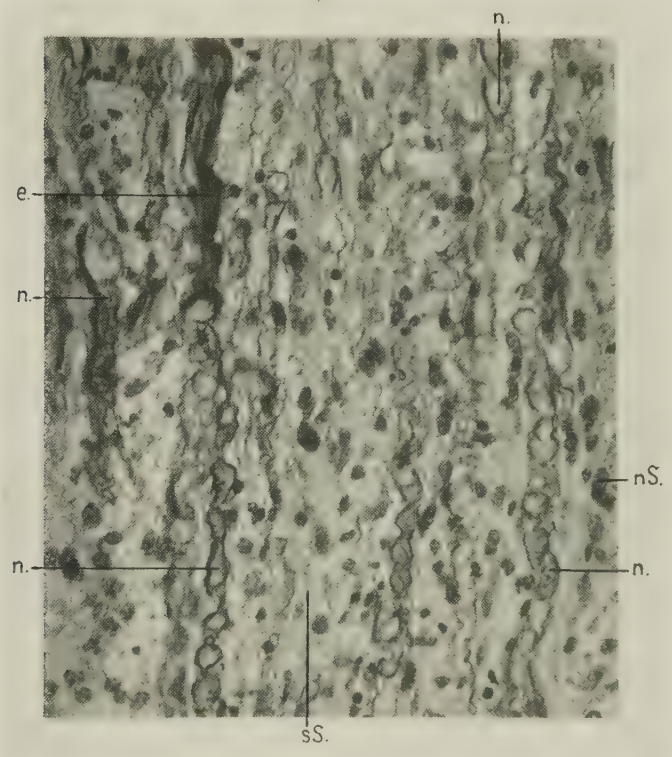


Fig. 9. — Section du tissu de la tumeur montrant de longs cordons neuritiques moniliformes, avec tendance à la vacuolisation, traversant les travées syncytiales névrogliques coupées suivant leur longueur. (Microphoto Zeiss-Phocus. Obj. 20.)

représentant des sections longitudinales des travées du syncytium de Schwann (fig. 9 et 10; pl. IV, fig. 8).

Les neurites myélinisés, intéressés par la coupe, forment de longs cordons inégalement colorés, montrant par place des petites bosselures et une tendance à la vacuolisation. Ils touchent direc-

tement au cytoplasma du syncytium de Schwann. A gauche de la figure 8, planche IV, on aperçoit un neurite d'apparence normale, uniformément coloré et en contact direct avec les fibres collagènes. La gaine névroglique de Schwann de ce neurite n'est pas évidente à cause de sa minceur extrême caractéristique de l'état physiologique normal.

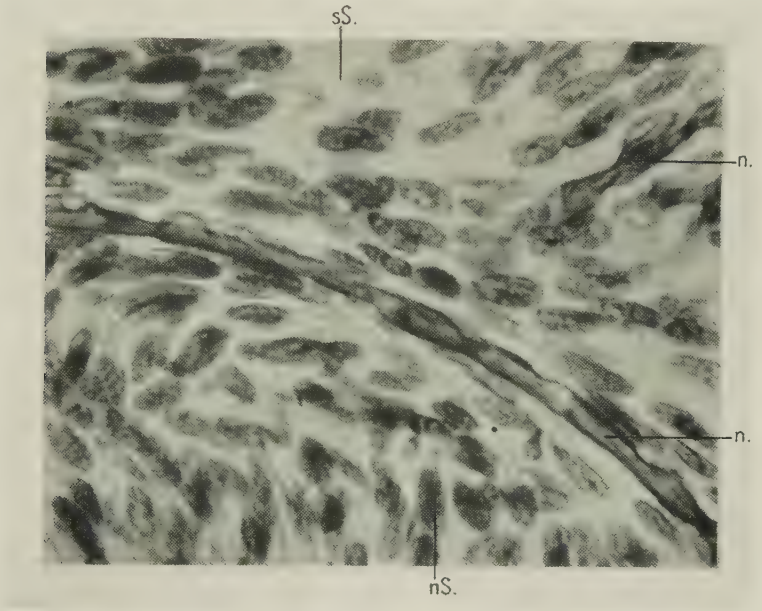


Fig. 10. — Section longitudinale d'un neurite myélinisé entouré du syncytium de Schwann transformé en une énorme masse cytoplasmique multinucléée. Dans le coin, on remarque d'autres neurites intéressés sur un très court trajet. (Microphoto Zeiss-Phocus. Obj. 40.)

*
**

Cette analyse des divers champs microscopiques représentant chronologiquement les étapes évolutives de cette tumeur, nous autorisent à conclure que nous avons à faire ici à un schwannome.

En effet, l'élément principal, qui par son hyperplasie constitue la tumeur, est le syncytium de Schwann. Il est le représentant de la névroglie dans le système nerveux périphérique et peut être

homologué à l'oligodendroglie du système nerveux central. Ce syncytium accompagne le neurite pendant tout son parcours à travers le tissu conjonctif, en lui octroyant une gaine cytoplasmique protectrice continue. Le tissu conjonctif ne vient nulle part en contact direct avec le neurite. D'autre part, le neurite ne quitte jamais la gaine névroglique que lorsqu'il arrive au contact de l'épithélium (glandulaire ou de revêtement).

La gaine syncytiale névroglique de Schwann est un tissu spécifique, entièrement différent du tissu conjonctif. Elle ne peut jamais essayer la métamorphose conjonctive au cours de son évolution normale ou pathologique. Ses caractères intrinsèques fondamentaux, tant morphologiques que physiologiques, si particuliers, persistent et se manifestent comme tels même au cours des transformations pathologiques subies par la névroglie. La spécificité de la névroglie périphérique, appuyée sur l'histogénèse et démontrée expérimentalement par le professeur Nageotte au cours de ses très remarquables travaux sur la cicatrisation et la régénération des nerfs, se révèle aussi, nettement, dans les tumeurs spontanées engendrées, à ses dépens, sur le trajet des nerfs.

Le professeur Nageotte a démontré depuis longtemps qu'après la section d'un nerf, le syncytium de Schwann du segment inférieur, resté inhabité par les neurites, continue à persister avec ses caractères distincts et peut même s'hypertrophier. Le cytoplasma de ce syncytium prend alors une configuration cloisonnée, rappelant fidèlement, sur coupes, l'aspect spongieux des travées syncytiales de notre tumeur.

Cet auteur est arrivé, par un procédé particulier, à provoquer même « une hypertrophie considérable et monstrueuse, par certains caractères » de cette gaine syncytiale de Schwann. Dans ce cas, « les travées névrogliques prolifèrent intensément et envahissent les tissus voisins, les muscles même, en les détruisant à la façon d'une tumeur épithéliale ou d'un sarcome. Néanmoins, leur puissance de prolifération n'est certainement pas indéfinie comme celle des tumeurs malignes ».

Ces travées névrogliques hyperplasiques gardent, au milieu des tissus envahis, leurs caractères fondamentaux spécifiques. Le tissu conjonctif contigu peut essayer des transformations à leur contact, — proliférer ou régresser, — mais ne peut jamais dériver de la transformation directe des éléments névrogliques de Schwann.

Les tubes névrogliques, qui prolifèrent intensément dans ces

conditions expérimentales particulières, « sont orientés tous parallèlement, dans des faisceaux ou des rubans qui s'entrecroisent dans tous les sens, de façon à donner un aspect natté sur la coupe ».

C'est exactement la disposition prise par les travées syncytiales de la tumeur que nous venons d'analyser.

Ces expériences prouvent de la façon la plus évidente la spécificité de la névroglie périphérique et aident à expliquer, mieux

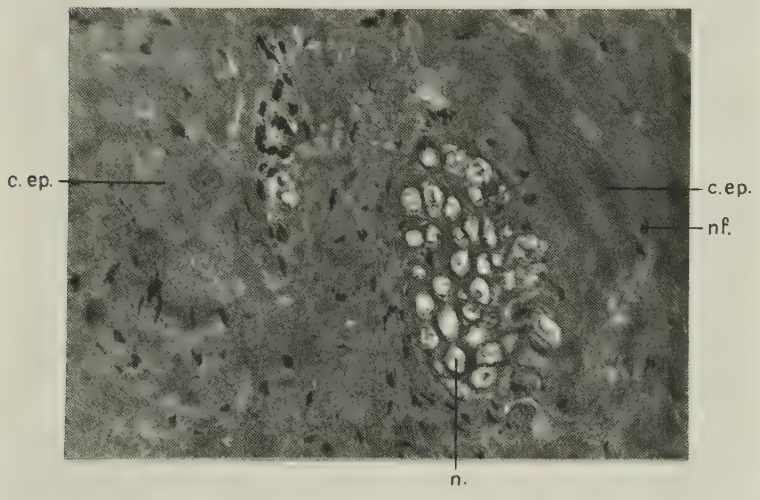


Fig. 11. — Section transversale d'un petit tronc nerveux envahi et étranglé par le tissu conjonctif dense et scléreux, du sac fibreux enveloppant la tumeur. (Microphoto Zeiss-Phocus. Obj. 20.)

qu'aucune autre, l'histogénèse de certaines tumeurs survenues sur le parcours des nerfs.

Cherchant la cause qui pourrait déclancher cette hyperplasie névroglique excessive dans le cas de ses expériences, le professeur Nageotte envisage « l'anémie temporaire provoquée par deux sections rapprochées du tronc nerveux laissé en place ».

Il nous semble pouvoir demander à la même cause l'explication du processus hyperplasique de la névroglie, dans le cas étudié par nous. Nous avons trouvé, en effet, au niveau du sac

fibreux qui enveloppait la tumeur, un petit tronc nerveux (fig. 11) qui paraissait être gêné dans son développement et son fonctionnement par la sclérose du sac qui s'était propagée à l'endonèvre. Il est très probable que la circulation à l'intérieur de ce nerf était déficitaire au niveau du segment envahi par la sclérose.

D'autre part, nous avons vu qu'en-dessous du sac cette sclérose se propageait au petit tronc nerveux qui s'enfonçait dans la tumeur, prenant la forme d'une sclérose périneuritique, bien individualisée autour de chaque neurite (fig. 5 et pl. II, fig. 4). Cette sclérose était limitée seulement à un court trajet du nerf et était suivie d'une réaction hyperplasique de la névroglie de Schwann, dans les segments situés en-dessous.

Ni au niveau du sac fibreux de la tumeur (fig. 11), ni sur un court trajet immédiatement en-dessous de lui (fig. 5, pl. II, fig. 4), le tronc nerveux envahi par la sclérose ne présentait encore aucune réaction de la part de sa névroglie, réduite qu'elle était, comme à l'état normal, à un voile cytoplasmique périneuritique si mince, que les moyens usuels de la technique histologique ne pouvaient le révéler.

Au contraire, sur les coupes intéressant le tronc nerveux, lorsqu'il s'enfonçait plus profondément dans la tumeur, nous avons remarqué l'apparition de la gaine névroglique de Schwann sous la forme d'une couche cytoplasmique d'épaisseur progressivement croissante, placée entre le neurite et la gangue scléreuse périneuritique (fig. 6, pl. II, fig. 5).

En même temps que progressait l'hypertrophie du cytoplasma névroglique de Schwann, la gangue scléreuse périneuritique était dissociée en ses faisceaux constitutifs, par la poussée excentrique de la névroglie.

En somme, le tronc nerveux semble avoir été mis, sur une partie de son parcours, précisément au niveau du sac fibreux, dans des conditions similaires à celles réalisées dans l'expérience du professeur Nageotte.

Nous ignorons les causes qui ont favorisé la sclérose du nerf au niveau du sac, et ont provoqué consécutivement l'hyperplasie de la névroglie, par insuffisance circulatoire.

Il est très probable qu'une irritation locale, passagère et inconnue, de nature inflammatoire, traumatique ou autre, a pu créer des conditions favorables à la rupture de l'équilibre qui existe normalement dans le système neurite-névroglie-fibroblastes du nerf, en faveur de la névroglie.

D'ailleurs, le professeur Nageotte avait signalé que le tissu conjonctif, qui pendant la vie embryonnaire évolue de pair avec la transformation des travées névrogliques primitives en travées adultes, ne suit plus la névroglie dans son développement hypertrophique au cours des gliomes expérimentaux ou spontanés.

Cela concorde pleinement avec ce que nous venons de constater relativement à notre tumeur, où le tissu conjonctif périneuritique, très hypertrophié à un moment donné, essaye une régression visible et s'éparpille devant l'hyperplasie névroglique.

Il semble que la cause première, qui a favorisé la rupture de l'équilibre existant entre les constituants du système neurite-névroglie-fibroblaste, a établi en même temps un cercle vicieux qui entretient ce déséquilibre. D'une part, le tissu conjonctif éveillé à la croissance exagérée par l'irritation première, inconnue, déclanche l'hyperplasie de la névroglie, qui, à son tour, arrête cette croissance ; d'autre part, l'hyperplasie névroglique a des répercussions fâcheuses sur le développement du neurite, amenant sa régression ou sa mort même.

Cette gêne, qu'apporte au neurite le développement exagéré de la névroglie, a été signalée aussi par le profeseur Nageotte pendant ses recherches sur la régénération des nerfs au cours des blessures, lorsqu'il dit « que l'hypertrophie provoquée des travées névrogliques gêne sensiblement la pénétration des neurites et exerce une action absolument néfaste sur leur développement ultérieur, en particulier sur leur myélinisation ». Dans notre cas, les figures de dégénérescence des neurites sont très fréquentes, et illustrent pleinement les opinions déjà émises par le professeur Nageotte, basées sur l'expérimentation.

Les faits expérimentaux, auxquels nous avons fait si souvent appel au cours de la discussion, concordent avec les faits que nous venons de constater au cours de l'analyse de la tumeur, et semblent justifier notre diagnostic histopathologique de schwannome.

EXPLICATION DES PLANCHES

(Dessins et microphotographies des pièces fixées dans le liquide de Bouin, incluses à la paraffine et colorées à l'hématoxyline de Mallory.)

LÉGENDE :

m. = gaine de myéline.
c. = cylindraxe.
e. = fibres conjonctives de l'endonèvre.
n. S. = noyau du syncytium de Schwann.
s. S. = syncytium de Schwann.
n. f. = noyau fibroblastique.
n. = neurite.
v. = vaisseau.
c. ép. = conjonctif de l'épinèvre.

Planche I.

Fig. 1. — Vue d'ensemble du centre de la tumeur ; tourbillons multiples formés par les bandes du syncytium de Schwann, séparées par de minces faisceaux collagènes. (Microscope Zeiss. Oc. 10. Obj. D.)

Fig. 2. — Une formation « en tourbillon » du syncytium de Schwann, isolée, dont le centre n'est pas habité par un neurite myélinique. Autour, on observe de petits groupements isolés, constitués par le syncytium de Schwann, logeant au centre des neurites myélinisés *(n.)*. Quelques-uns de ces groupements adhèrent à la périphérie de la grande formation « en tourbillon ». (Microscope Zeiss. Oc. 10. Obj. D.)

Planche II.

Fig. 3. — Travées syncytiales de Schwann coupées en longueur, appartenant à la partie périphérique de la tumeur, s'effilochant dans le tissu conjonctif lâche. Les fibres collagènes limitent nettement la surface de ces travées névrogliques. (Microscope Zeiss. Oc. 10. Obj. D.)

Fig. 4. — Coupe transversale d'un petit tronc nerveux enfoncé dans la tumeur, sans faire corps avec elle. Les fibres nerveuses constituantes sont légèrement écartées entre elles. Chacune se compose d'un neurite myélinisé, entouré d'une coque fibreuse hypertrophiée.

On n'y distingue pas le syncytium de Schwann existant autour de chaque neurite. Le noyau collé étroitement à un des neurites représente un noyau schwannien ; les autres, trouvés entre les fibres conjonctives de l'endonèvre, représentent des noyaux fibroblastiques. (Microscope Zeiss. Oc. 10. Obj. imm. 1/12.)

Planche III.

Fig. 5. — Coupe transversale d'un petit tronc nerveux enclavé dans la tumeur, ne faisant pas corps avec elle et représentant un stade métamorphique plus avancé. Les fibres nerveuses sont plus dissociées encore. Les neurites sont entourés chacun d'une gaine syncytiale de Schwann hypertrophiée, bien visible, qui repousse devant elle la coque scléreuse périneuritique fragmentée. (Microscope Zeiss, Oc. 10. Obj. imm. 1/12.)

Fig 6. — Coupe transversale des travées syncytiales de Schwann, développées autour des neurites qui pénètrent dans la tumeur proprement dite et font corps avec elle.

Ces travées anastomotiques contiennent, au centre, des neurites myélinisés et sont limitées à la périphérie par de rares faisceaux collagènes (coupés transversalement aussi) irrégulièrement répandus; quelques-uns de ces derniers semblent placés à l'intérieur des travées. (Microscope Zeiss. Oc. 10. Obj. imm. 1/12.)

Planche IV.

Fig. 7. — Coupe transversale des travées syncytiales de Schwann qui constituent le tissu propre de la tumeur. Elles sont séparées par de minces faisceaux de fibres collagènes, éparpillés à leur périphérie, ainsi que par d'autres bandes syncytiales très déliées, serpentant parmi les premières et coupées longitudinalement ou obliquement. Les travées du syncytium de Schwann sont excessivement hypertrophiées et possèdent des neurites myélinisés gonflés, vésiculeux, avec gaine de myéline très mince, se colorant faiblement. (Microscope Zeiss. Oc. 10. Obj. imm. 1/12.)

Fig. 8. — Coupe intéressant longitudinalement les travées syncytiales de Schwann et les neurites myéliniques. On distingue des cordons neuritiques moniliformes, parcourant les travées du syncytium de Schwann. A gauche de la figure, on remarque un neurite d'apparence normale, touchant aux fibres collagènes par l'intermédiaire de la gaine de Schwann, qui n'est pas évidenciée sur la préparation, à cause de sa minceur excessive. (Microscope Zeiss. Oc. 5. Obj. imm. 1/12.)

Planche V.

Fig. 9, 10 et 11. — Microphotographies des cylindraxes inclus dans le tissu de la tumeur, montrant différents processus de dégénérescence. (Microphoto Zeiss-Phocus. Obj. Zeiss imm. 1/12. Agrandissement.)

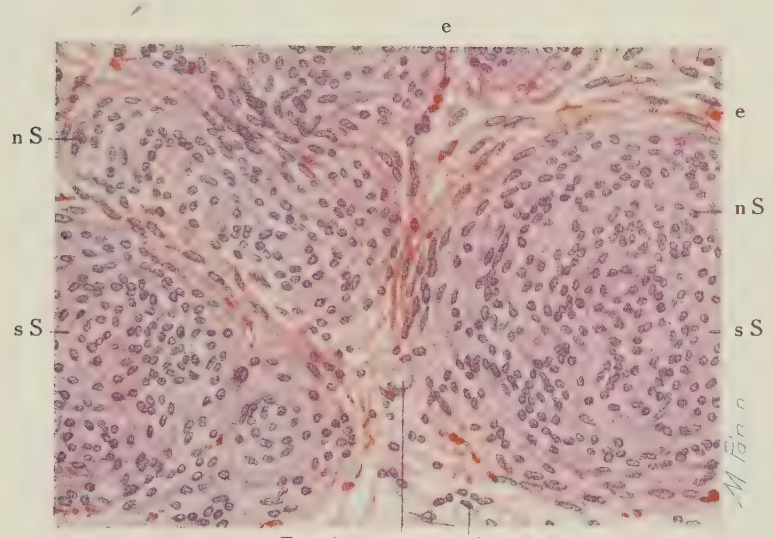


Fig. 1

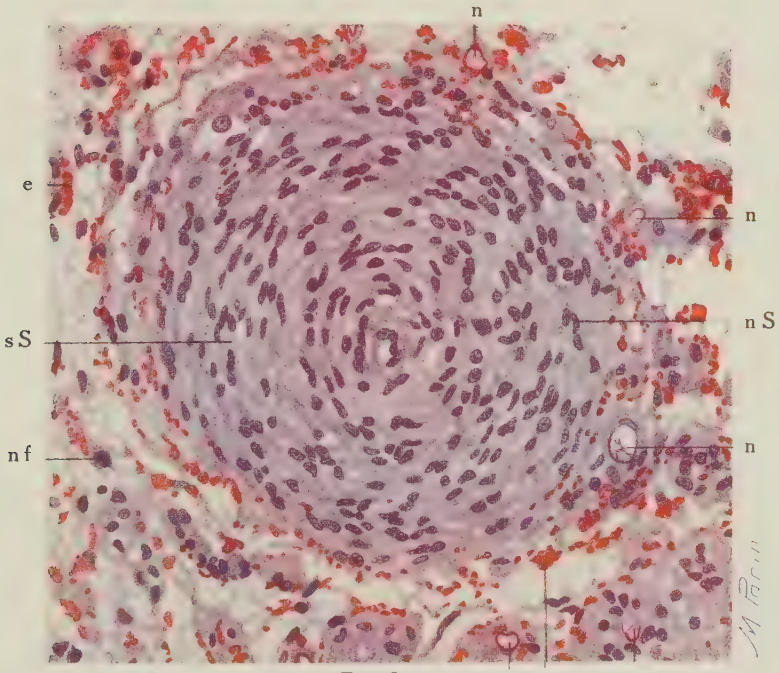


Fig. 2

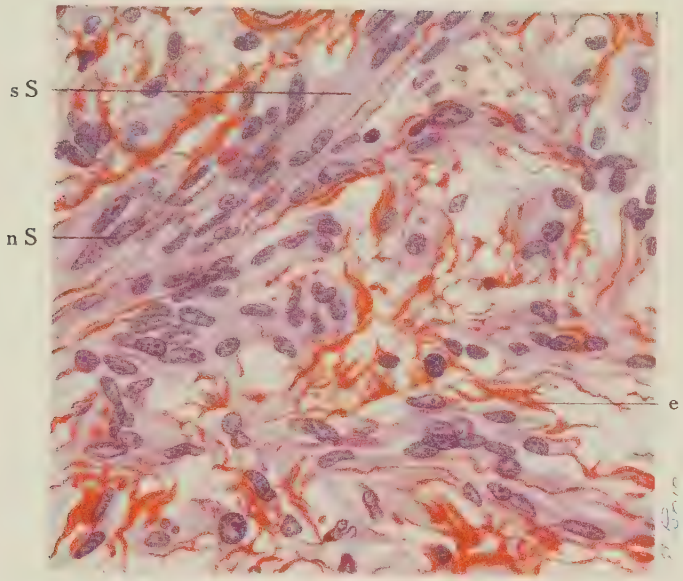


Fig. 3

Fig. 4

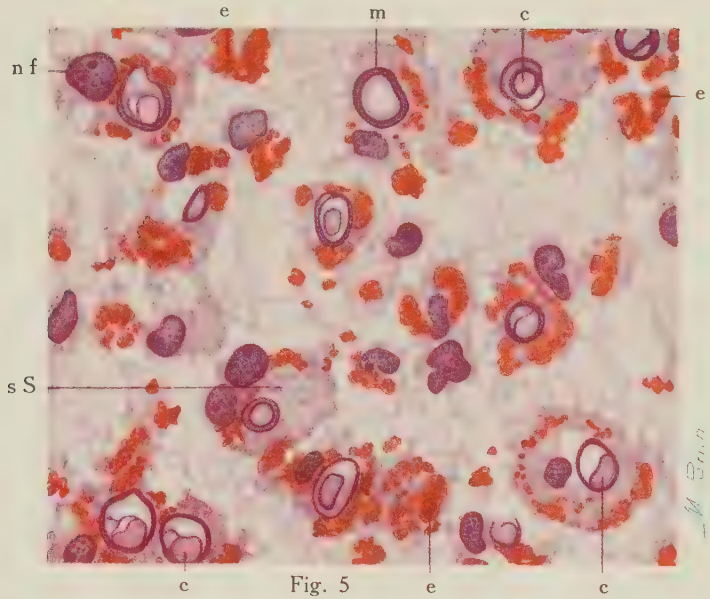


Fig. 5

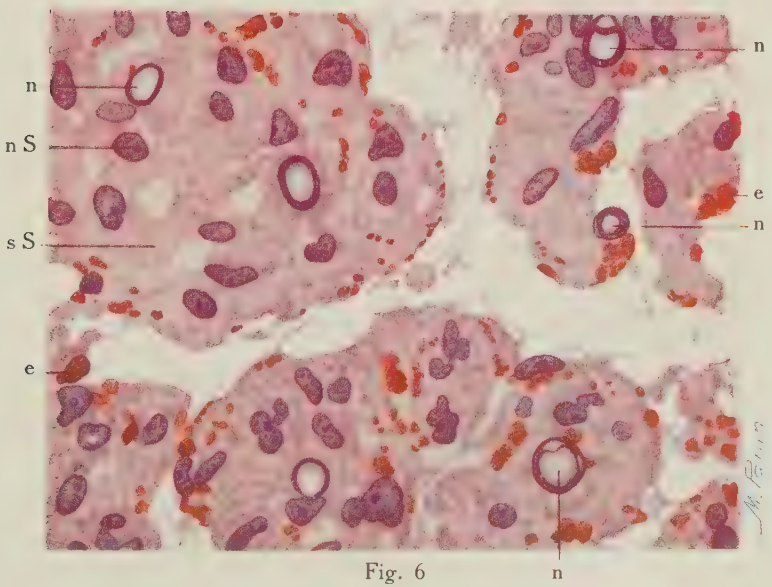


Fig. 6

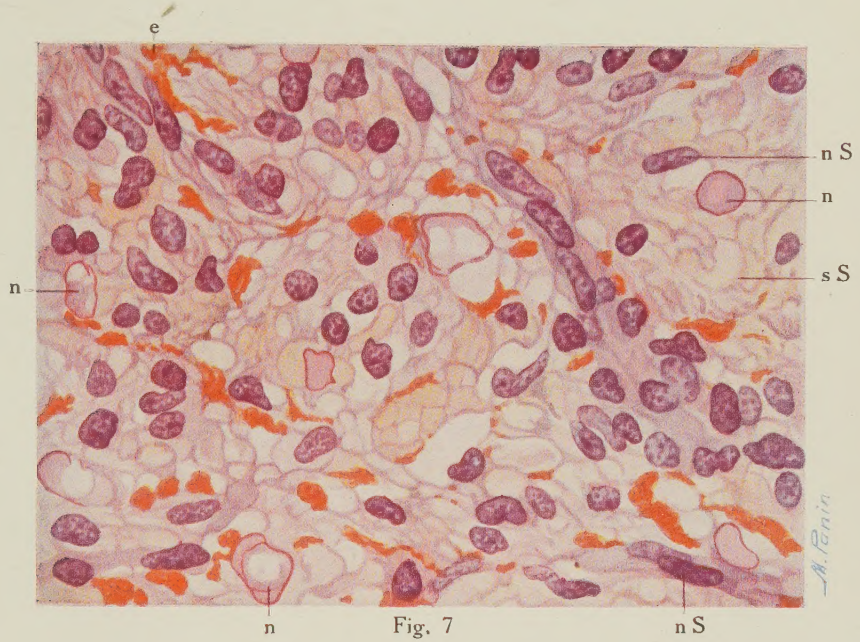


Fig. 7

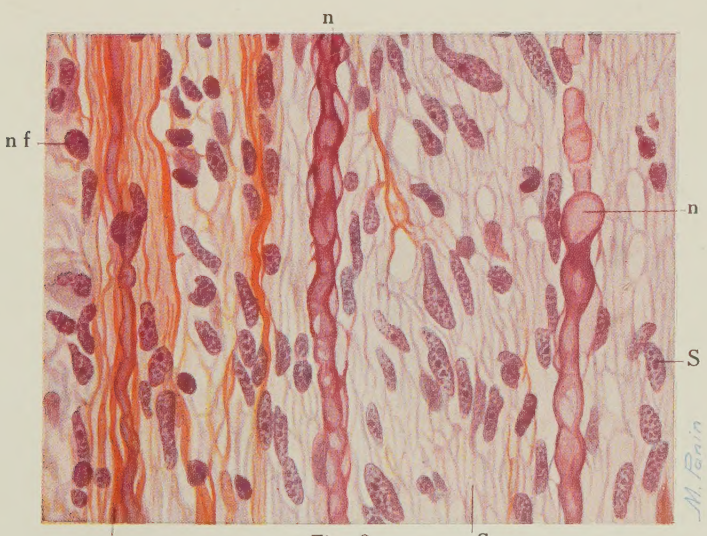


Fig. 8

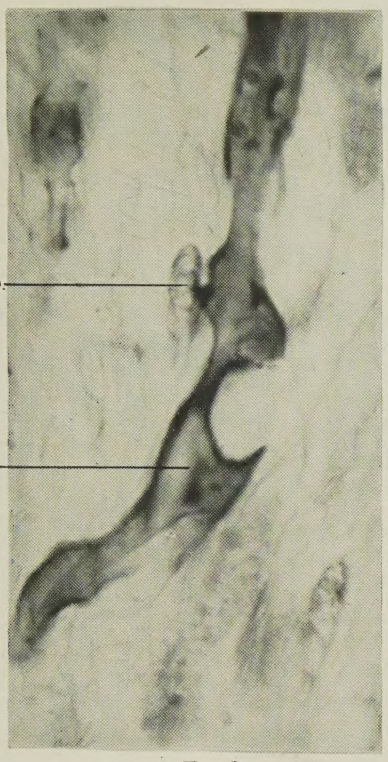


Fig. 9

Fig. 10

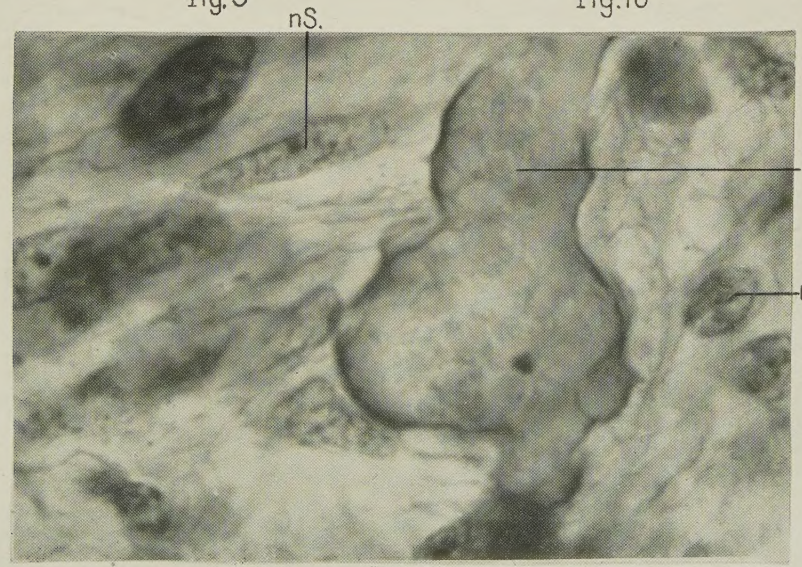


Fig. 11

MASSON ET Cie, ÉDITEURS

Le Gérant : J. CAROUJAT. NIORT. — IMP. TH. MARTIN